



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE GERIATRIA E GERONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GERONTOLOGIA BIOMÉDICA

CARINA ZUPPA

**EFEITOS DE UM PROTOCOLO DE INTERVENÇÃO DE ACUPUNTURA
SOBRE SINTOMAS PSICOLÓGICOS, QUALIDADE DO SONO E
IMUNOSSENESCÊNCIA EM IDOSOS**

Porto Alegre

2014

CARINA ZUPPA

**EFEITOS DE UM PROTOCOLO DE INTERVENÇÃO DE ACUPUNTURA
SOBRE SINTOMAS PSICOLÓGICOS, QUALIDADE DO SONO E
IMUNOSSENESCÊNCIA EM IDOSOS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul como requisito para a obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Moisés Evandro Bauer

Porto Alegre

2014

Z95e Zuppa, Carina

Efeitos de um protocolo de intervenção de acupuntura sobre sintomas psicológicos, qualidade do sono e imunossenescência em idosos. / Carina Zuppa -- 2014.

43 f. : il., gráficos, tabelas ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Instituto de Geriatria e Gerontologia. Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica, 2014.

CARINA ZUPPA

EFEITOS DE UM PROTOCOLO DE INTERVENÇÃO DE ACUPUNTURA SOBRE
SINTOMAS PSICOLÓGICOS, QUALIDADE DO SONO E IMUNOSSENESCÊNCIA
EM IDOSOS

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do grau de Mestre pelo
Programa de Pós- Graduação em Gerontologia Biomédica da Pontifícia
Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Aprovada em: 26 de março de 2014.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dra. Alessandra Peres - IPA

Profa. Dra. Carla Schwanke - PUCRS

Prof. Dr. Moisés Evandro Bauer - PUCRS

Porto Alegre

2014

DEDICATÓRIA

Às pessoas que fizeram a
diferença em minha vida... Para
as pessoas que quando olho para
trás, sinto falta...

Dedico às pessoas que me
acolheram, as pessoas que
admiro... Que amo... Que
abraço...

Para mim, o que importa não é o
que temos na vida, e sim é o que
somos, quem temos e a nossa
capacidade de agregar valores na
vida de outras pessoas, numa
troca de experiências.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família, ao meu pai Darci Zuppa e minha mãe Cleusa Zuppa pelo carinho e apoio nesta etapa acadêmica. Sem este apoio, possivelmente, esta caminhada teria sido mais difícil para mim.

Agradeço ao meu namorado Lucas Timm Lima, pela paciência, compreensão e carinho durante essa trajetória. Por toda a ajuda nos meus dias ruins. Obrigada pelo teu apoio que foi de extrema importância.

Gostaria de fazer um agradecimento especial aos queridos Ribamar, Odete e Tiago, que foram os primeiros a me acolherem, me apoiaram quando cheguei em Porto Alegre.

Agradeço aos meus familiares e amigos que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Gostaria de agradecer ao professor Moisés Evandro Bauer por ter me recebido com toda a dedicação para compor seu grupo de orientandos. Além disto, agradeço por todo o conhecimento que adquiri durante esses dois anos que se passaram. Agradeço pela confiança em mim e no meu trabalho.

A toda equipe do IGG e em especial Mônica, muito obrigada pela parceria e ajuda, pelo empréstimo de várias salas e materiais, esse apoio foi muito importante para mim.

As minhas até então colegas de curso, e agora amigas Rubia Deon e Rosane Dias da Rosa, obrigada! Sempre que eu precisei vocês estavam dispostas a ajudar.

A Aline Zaparte e Andressa Barbosa muito obrigada pela força, ajuda, companheirismo durante toda esta trajetória. Com toda a certeza minha busca por pacientes se tornaram muito mais agradável na companhia destas meninas.

Agradeço também Carine Hartmann do Prado e Andréia Wieck, por me ensinarem a usar software e equipamentos essenciais para o desenvolvimento desta pesquisa e por ajudarem com a parte da citometria. Além disso, registro os meus mais sinceros agradecimentos as duas citadas acima e Ágatha Schommer, Laura Petersen, Julia Motta, Talita Siara, Guilherme Muller pela companhia e parceria diária no laboratório de imunologia do envelhecimento.

Aos idosos que participaram do estudo, muito obrigada.

*“Sua tarefa é descobrir o seu trabalho e, com
todo coração dedicar-se a ele.”*

Siddharta Gautama

ZUPPA, C. Efeitos de um Protocolo de Intervenção de Acupuntura sobre Sintomas Psicológicos, Qualidade do Sono e Imunossenescência em Idosos [Dissertação] Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2014.

RESUMO

Introdução: A acupuntura é uma terapia oriental que tem demonstrado ser benéfica no tratamento de várias condições. Diversos estudos têm mostrado que a acupuntura é uma boa opção de tratamento para o stress, depressão, bem como para melhorar o sono. No entanto, poucos estudos têm um bom design e grupos de controle robusto e envolvem idosos. Objetivos: o presente trabalho visou analisar o efeito da acupuntura sobre o stress, depressão e qualidade do sono, bem como sobre o sistema imunológico em idosos. Métodos: quarenta e oito idosos residentes na comunidade foram recrutados em um estudo único cego, randomizado em dois grupos (acupuntura verdadeira N=24 e controle N=24), controlado por placebo. A intervenção consistiu em sessões realizadas duas vezes na semana por um período de cinco semanas com trinta minutos de duração. Os pontos de acupuntura envolvidos foram SP6 (Sanyinjiao), LI4 (Hegu), ST36 (Zusanli), LR3 (Taichong), PC6 (Neiguan) e EX - NH3 (Yintang). Grupo Placebo também recebeu agulha que foram inseridos em pontos superficiais longe dos pontos verdadeiros de acupuntura. A qualidade do sono foi avaliada pelo questionário PSQI (Pittsburgh Sleep Quality Index), estresse e depressão foram avaliados através de entrevistas, onde questionários clínicos específicos (Beck Depression Scale e BDI - II) foram aplicados. O sangue periférico foi recolhido e os linfócitos foram isolados a partir de células mononucleares do sangue periférico (PBMC) e imunofenotipadas por citometria de fluxo para vários subtipos de linfócitos, as células B, nas células T ativadas, células T regulatórias, células Natural Killers (NK) e células T associadas a senescência. Os pontos de medições foram realizadas antes do começo das sessões e no final do tratamento. Os grupos foram homogêneos no início do estudo. Resultados: a acupuntura é altamente eficaz para melhorar a qualidade do sono (- 53,23 %, $p < 0,01$) depressão (-48,41 %, $p < 0,01$) e estresse (-25,46 %, $p < 0,01$) . No entanto, nenhum efeito sobre o sistema imunitário pode ser observado. Conclusão: A acupuntura foi eficaz em melhorar a qualidade do sono e diminuição

do estresse e de depressão em idosos. Mais estudos são necessários para investigar o impacto da acupuntura sobre a imunidade.

Palavras chave: Acupuntura, placebo acupuntura, sono, estresse, depressão, linfócitos, imunossenescência.

ZUPPA, C. Intervention Effects of Acupuncture on Psychological Symptoms, Quality of Sleep and Immunosenescence in Elderly [Dissertação] Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2014.

ABSTRACT

Introduction: Acupuncture is an Oriental therapy that has shown in several studies to be beneficial in treating various conditions. Several studies have shown acupuncture as a good treatment option for stress, depression as well as for improving sleep, however, few studies have a good design and robust control groups. Objective: the present work is to analyze the effect of acupuncture on stress, depression and sleep quality, as well as over the immune system. Methods: forty-eight elderly residents in the community took place in this single blind, placebo-controlled trial, randomized into two groups (n = 24 real acupuncture and control n = 24) placebo controlled. The intervention consisted of sessions held twice a week for five weeks thirty minutes long. The intervention consisted of ten (twice a week) true acupuncture sessions (n=24) or placebo (n=24). Acupuncture points involved were SP6 (Sanyityiao), LI4 (Hegu), ST36 (Zusanli), LR3 (Taichong), PC6 (Neiguan) and EX - NH3 (Yintang). Placebo group also received needle which were inserted into surface sites far from true acupuncture points. Sleep quality was assessed by questionnaire PSQI (Pittsburgh Sleep Quality Index), stress and depression were assessed through interviews where specific clinical questionnaires (Beck Depression Scale and BDI - II) were applied. Peripheral blood was collected and lymphocytes were isolated from peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and immunophenotyped by flow cytometry for several lymphocytes subtypes as B cells, activated T cells, regulatory T cells (REG), natural killer cells (NK) and CD28 - associated T cell senescence. Measurements were conducted before the beginning and at the very end of treatment. The groups were homogeneous at baseline. Results: acupuncture is highly effective for improving quality of sleep (-53.23 %, p < 0.01) depression (-48.41 %, p < 0.01) and stress (-25.46 %, p < 0 01). However, no effect on immune system could be observed. Conclusion: Acupuncture was effective in improving sleep quality and decreased stress and depression scores in the elderly. Further studies are necessary to investigate the impact of acupuncture on immunity.

Keywords: Acupuncture, placebo acupuncture, sleep, stress, depression, lymphocytes, immunosenescence.

SUMÁRIO

1. CAPÍTULO 1	8
1.1 INTRODUÇÃO.....	9
1.2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	11
1.2.1 O envelhecimento e seus aspectos imunológicos, emocionais e qualidade do sono	11
1.2.3 Mecanismos de ação da acupuntura.....	12
1.2.4 Acupuntura na Qualidade do Sono e Sintomas psicológicos	14
1.2.5 Acupuntura e o Sistema Imunológico.....	15
1.3 OBJETIVOS.....	17
2. CAPITULO 2	18
2.1. ARTIGO CIENTÍFICO	19
ABSTRACT	20
STUDY DESIGN	22
SUBJECTS	22
INTERVENTION	23
MEASURES	24
BLOOD COLLECTION AND LYMPHOCYTE ISOLATION	25
IMMUNOPHENOTYPING	25
STATISTICAL ANALYSES.....	25
RESULTS	26
SOCIO-DEMOGRAPHIC AND PSYCHOLOGICAL DATA AT BASELINE	26
EFFICACY OF QUALITY OF SLEEP, STRESS AND DEPRESSION.....	26
IMMUNOSENESCENCE MARKERS	27
DISCUSSION	27
ACKNOWLEDGMENTS	29
REFERENCES	30
3. CAPÍTULO 3	39
3.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
3.2 CONCLUSÃO	41
REFERÊNCIAS	42
ANEXOS	46

1. CAPÍTULO 1

1.1 INTRODUÇÃO

A manifestação do envelhecimento ao longo da vida é variável entre os indivíduos da mesma espécie e entre indivíduos de espécies diferentes. Nas últimas décadas tivemos um envelhecimento acelerado da população mundial. No Brasil, as projeções demográficas estimam que no período entre 2000 e 2050 a proporção de idosos na população deve subir de 5,1% para 14,2%. Juntamente com esse crescimento vem uma grande preocupação quanto ao envelhecimento com qualidade e saúde (1). Com o foco na área do envelhecimento, diversos grupos de pesquisa abordam assuntos relacionados ao envelhecimento, visando a promoção do envelhecimento saudável e atenuando seus processos prematuramente (2).

As pesquisas prévias do Laboratório de Imunologia do Envelhecimento do IPB-PUCRS indicaram que o envelhecimento saudável está associado com uma sobrecarga emocional e hormônios do estresse (3), e o estresse crônico é capaz de acelerar o processo de imunossenescência (2). A imunossenescência é caracterizada por modificações nas células e nas funções do sistema imunológico (4), essa sobrecarga emocional gerada pelo estresse também pode influenciar outros sintomas na qualidade do sono, dessa forma um dos fatores comumente associado ao desequilíbrio na qualidade do sono. Essa sobrecarga emocional é caracterizada por diversos sintomas psicológicos, sendo os principais a ansiedade, estresse e a depressão. Esses sintomas psicológicos tem como característica desequilibrar o padrão de sono com qualidade, contribuindo para o despertar várias vezes durante o sono (5). Pessoas com sobrecarga emocional têm dificuldade em manter o sono, têm menor tempo de sono profundo, conseqüentemente o sono mais fragmentado quando comparado ao de indivíduos saudáveis (6,7), sendo os idosos a população mais prejudicada, pois seu padrão de sono com qualidade tende a declinar com o avançar da idade (7). Além disso, a falta de sono produz sintomas que coincidem com os mecanismos fisiológicos observados durante o estresse e depressão (8).

Este complexo de distúrbios formado pela qualidade do sono ruim, pelo estresse e depressão também pode estar associado ao sistema imune, principalmente no envelhecimento (9–11). No envelhecimento, o sistema imune está associado a uma redução da eficiência tanto na imunidade inata quanto do sistema

imune adaptativo (12). As evidências recentes sugerem que os fatores de estresse psicológico, depressão e qualidade do sono ruim não estão apenas envolvidos em imunossenescência mas também podem ser associados com envelhecimento precoce (9,10).

Atualmente tem sido discutida a influência de intervenções que produzem relaxamento, como a acupuntura, sobre as células imunológicas. Alguns dados afirmam que idosos estritamente saudáveis são um pouco mais protegidos da exposição ao estresse e apresentam funções neuro-imuno-endócrinas normais. Além disso, dados recentes num estudo preliminar do nosso grupo sugerem que a acupuntura é capaz de atenuar a sobrecarga emocional, diminuir o estresse e atenuar o processo de imunossenescência (13). Dessa forma podemos pressupor que intervenções como a acupuntura possam também influenciar positivamente as funções imunes, mantendo os níveis de estresse controlados, contribuindo dessa forma positiva na qualidade do sono dos idosos além de diminuir a sobrecarga emocional.

O estudo aqui apresentado é de caráter interdisciplinar e intervencional, com desenho simples-cego e randomizado. Analisou-se analisar os efeitos de uma intervenção de acupuntura sobre certos aspectos psicológicos (depressão e estresse), a qualidade do sono e marcadores celulares da imunossenescência em idosos aparentemente saudáveis.

1.2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.2.1 O envelhecimento e seus aspectos imunológicos, emocionais e qualidade do sono

O envelhecimento é um processo natural e progressivo no ser humano, acompanhado de mudanças tanto físicas, funcionais e psicológicas. O Brasil apresenta uma maior taxa de idosos na população quando comparamos o século 21 com os demais, devido a uma maior atenção básica à saúde, maior disponibilidade de recursos como medicamentos, exames e medidas preventivas. Desta forma, conseguir viver por mais tempo com saúde e qualidade são desafios para a terceira idade. A velhice sem qualidade pode estar associada a problemas de saúde, perda da qualidade do sono, depressão, problemas psicológicos incluindo níveis aumentados de estresse e ansiedade, entre outros fatores que não são positivos para um envelhecimento saudável (14).

Dentre as dificuldades que surgem no envelhecimento, a má qualidade do sono é impactante para a saúde do idoso (15). O sono é imprescindível para a manutenção de uma vida saudável, influenciando condições físicas, psicológicas e sociais (16). De acordo com alguns estudos, diversas mudanças na qualidade do sono podem ocorrer ao longo do envelhecimento, sendo as queixas mais frequentes o aumento dos despertares após início do sono, dificuldade em adormecer novamente, diminuição das horas dormidas, contribuindo para uma má qualidade do sono global (17). No Brasil, metade da população idosa apresenta transtornos relacionados ao sono, o que prejudica a saúde física, cognitiva, emocional e diminui a qualidade de vida aumentando a morbidade e mortalidade (17).

Porém a qualidade do sono ruim é uma situação que não anda sozinha na terceira idade, geralmente ela vem acompanhada de problemas psicológicos como a depressão e o estresse e reciprocamente (7). Aproximadamente 80% dos pacientes que possuem sintomas depressivos apresentam queixas relacionadas a mudanças na qualidade do sono. A insônia é uma das principais alterações, considerada um importante fator de associação ao aumento do risco de depressão (18). A sobrecarga emocional dos idosos levaria a uma qualidade do sono ruim,

contribuindo para um envelhecimento prematuro e a diversos outros aspectos, incluindo a imunossenescência (9).

A imunossenescência é caracterizada por uma reestruturação celular e funcional do sistema imune (4,9). A imunossenescência envolve tanto a imunidade inata como a adaptativa e quase todos os componentes do sistema imune são alterados. Uma das principais alterações do sistema imune durante o envelhecimento é um aumento gradual de respostas inflamatórias, conhecido como “*inflammaging*” (2). O processo de envelhecimento parece afetar tanto a imunidade inata, representada principalmente por monócitos, células NK e células dendríticas, quanto à imunidade adaptativa, representada pelos linfócitos T e B. Porém, elas são afetadas de maneiras diferentes: a imunidade inata parece ser melhor preservada, enquanto que a imunidade adaptativa manifesta profundas modificações dependentes da idade, que são frequentemente prejudiciais (19,20). Além disso, os linfócitos B de idosos produzem menos anticorpos contra novos antígenos do que jovens adultos – fato esse associado com risco aumentado para certas doenças crônicas, infecções virais e bacterianas repetidas (19,20). O estresse crônico pode ser um dos fatores que deixa indivíduos idosos mais vulneráveis às doenças relacionadas com a idade, por acelerar aspectos cognitivos, emocionais e imunológicos do envelhecimento saudável (2,21).

1.2.3 Mecanismos de ação da acupuntura

A acupuntura é uma técnica que consiste na inserção de agulhas muito finas e determinados pontos distribuídos ao longo do corpo, estes pontos são denominados acupontos e os canais pelos quais são distribuídos são denominados meridianos. Em diversos procedimentos a agulha inserida no acuponto pode ser estimulada (22). Segundo a teoria da Medicina Tradicional Chinesa, a estimulação de pontos de acupuntura provoca resposta funcionais que podem ser utilizadas para tratar diversas doenças (23). Os acupontos estão localizados em meridianos próximos de nervos periféricos e suas bifurcações, anexos neuromusculares, vasos sanguíneos e ligamentos (24).

Essa terapia, incluindo acupuntura e eletro acupuntura, tem atraído a atenção de muitos pesquisadores. Vários estudos demonstraram que o sistema nervoso, neurotransmissores e substâncias endógenas podem responder a estímulos do

agulhamento da acupuntura e eletroacupuntura. Uma abundância de informações já acumulada sobre os mecanismos neurobiológicos da acupuntura, dentre os principais mecanismos de ação já identificados, pode-se incluir a influência da acupuntura sobre a secreção local de mediadores como a substância P e as aminas vaso-ativas (histamina e serotonina), esses mediadores são liberados das células em resposta ao estímulo da agulha (25,26).

A acupuntura também pode influenciar a analgesia, pois envolve a estimulação de nervos de pequeno diâmetro, que levam mensagem a espinhal, o que ativa neurônios do tronco cerebral e do hipotálamo disparando mecanismos de opióides endógenos. A resposta é sobre as endorfinas, encefalinas e hormônios relacionados a estresse (25,26).

Outra forma de ação da acupuntura é estimulação na expressão genética de neuropeptídeos (são peptídeos liberados por neurônios como mensageiros intracelulares ou também são hormônios liberados por células não neuronais). O aumento de beta-endorfina foi proposto para explicar o efeito analgésico da acupuntura, o que contribui para diminuição da sensação dolorosa, e facilitação de sensações de relaxamento e bem-estar, embora não explique a ação da acupuntura em outras condições. Como ação parecida aos anti-inflamatórios a acupuntura inibe a permeabilidade vascular, limita a aderência leucocitária ao endotélio vascular e suprime a reação exsudativa. O estímulo por acupuntura pode induzir o óxido nítrico endógeno no núcleo grácil, que desempenha um papel importante na regulação de dor e homeostase cardiovascular (25,26).

Em estudos com ressonância magnética funcional ou tomografia por emissão de pósitrons demonstram que a acupuntura tem efeito na atividade cerebral em áreas previsíveis, relacionadas a pontos específicos. Por exemplo, pontos relacionados à visão e à audição estimulam áreas cerebrais visuais e auditivas, respectivamente (27).

Os mecanismos de ação dos pontos de acupuntura utilizados neste trabalho foram selecionados com base em estudos que verificaram seus benefícios para melhorar a qualidade do sono, diminuir o estresse (28) e a depressão (29) e ainda esse pontos se inter-relacionam benéficamente com as células do sistema imune principalmente aquelas que possuem relação com a imunossenescência (13,28) e com o sono (30).

1.2.4 Acupuntura na Qualidade do Sono e Sintomas psicológicos

A acupuntura é uma medicina complementar e alternativa que tem sido aplicada cada vez mais no tratamento psiquiátrico e emocional, ganhando seu embasamento científico devido a diversos estudos comprovarem seus efeitos benéficos (29). Dados mostram que a eletroacupuntura tem os mesmos efeitos terapêuticos que drogas convencionais como a fluoxetina para o tratamento de pacientes com Transtorno Depressivo. Além disso, ela se mostra eficaz também em acelerar a resposta clínica aos inibidores da recaptação da serotonina e evitar o agravamento da depressão (31).

Além de ser benéfica em sintomas psicológicos, estresse, transtornos depressivos, a acupuntura também se mostra eficaz no tratamento de distúrbios do sono e é usada para melhorar a qualidade do sono (32). A eletroacupuntura atua como tratamento adicional para a insônia e pode produzir bons resultados na qualidade do sono (33). Um estudo conseguiu comparar a ação da eletroacupuntura, acupuntura mínima e acupuntura placebo no tratamento da insônia associado com transtorno depressivo maior, sendo que encontrou-se uma vantagem da eletroacupuntura e acupuntura mínima sobre a acupuntura placebo não-invasivo como um tratamento adicional para a insônia porém, no transtorno depressivo maior não teve efeitos significativos, talvez devido a escolha dos pontos ser exclusiva para problemas relacionado ao sono como Yintang (EX-HN3), Baihui (GV20), bilateral Shenmen, Sishencong (EX-HN1), e Anmian (EX) e pontos que não são relacionados ao transtorno depressivo maior (33).

Outros dados sugerem ainda que a acupuntura pode ser efetiva para a melhoria da qualidade de sono dos trabalhadores obesos de um hospital universitário. Estes dados indicam que esta técnica pode ser utilizada como estratégia eficaz na promoção da qualidade de vida desta população em específico, principalmente devido à natureza do processo de trabalho em ambientes hospitalares, que se caracteriza como desgastante e geradora de distúrbios do sono, devido às longas jornadas, processo de trabalho em constante estresse, entre outros. Um fator limitante importante para este estudo foi à ausência de grupo controle no delineamento do estudo, o qual proveria nível de evidência mais forte aos resultados encontrados (5).

1.2.5 Acupuntura e o Sistema Imunológico

Na atualidade a acupuntura está sendo cada vez mais utilizada para o tratamento de diversas patologias, mas ainda temos dúvidas em seus mecanismos de ação e nos efeitos fisiológicos. Um estudo anterior realizado pelo nosso grupo de pesquisa procurou abordar a ação da acupuntura sobre o sistema imunológico e os aspectos psicológicos de idosos e adultos saudáveis (13). Este estudo indicou resultados alentadores com apenas três acupontos específicos (LI4, SP6, ST36) na diminuição da carga emocional (estresse e ansiedade), como também o aumento da proliferação das células T, contribuindo assim para a imunidade adaptativa. Além disso, o aumento da proliferação celular dos idosos ao término das sessões de acupuntura indica que o tratamento de acupuntura pode interferir positivamente no processo de imunossenescência (13).

A acupuntura tem impacto benéfico sobre várias funções imunológicas, incluindo as células T (34) células B (35) e as células NK (34,35). O ponto ST36 é muito usado para melhorar o funcionamento imune. A eletroacupuntura utilizada no ponto ST36 em ratos reduziu significativamente a incidência de artrite induzida por colágeno, e também Interleucina 6 (IL-6), Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), Interferon gama (IFN- γ), Imunoglobulina G (IgG) e Imunoglobulina M (IgM) no soro de roedores com artrite induzida por colágeno impedido a destruição da articulação do joelho (36). A eletroacupuntura também reduziu o número de células T ativadas (CD69+CD3+) e CD11a+CD19+ (36). Por essa razão o ponto ST36 é conhecido de acuponto de “imuno-reforço”, por ser o ponto mais comumente usado com a finalidade de reforço imunológico(36). Considera-se que o agulhamento no ST36 em conjunto com outros pontos bem escolhidos levaria a uma resposta imune mais eficaz (36).

A eletroacupuntura, uma parte integrante da medicina chinesa antiga, tem sido usada para tratar inúmeras doenças e sintomas como a dor na prática clínica. Evidências sugerem que ela pode melhorar a função imunitária após trauma cirúrgico tanto em animais quanto em seres humanos. Estudos demonstraram que eletroacupuntura no acuponto Zusanli (ST36) pode aumentar a proliferação e produção de linfócitos e IL-2 em ratos cirurgicamente traumatizada e a produção

IFN- γ do baço nos ratos. Cirurgia e trauma induzem alterações na resposta imune, mostrando um padrão predominante de ativação de Th1 e Th2. Trauma, estresse cirúrgico, estão associados com a supressão imune pós-operatória e aumento da susceptibilidade à infecção. O grupo que recebeu a eletroacupuntura, aumentou as expressões de Th1, suprimiu expressões Th2 e do mRNA, e aumentou as atividades de ERK1/2 em comparação com o grupo de trauma (37).

Foram investigados os efeitos de regulamentação da produção de citocinas no sangue periférico de pacientes com asma (AP) por SOOJI Chim (Acupuntura Koryo da Mão). Nesse caso, os sinais clínicos da asma melhoraram consideravelmente. Em sangue periférico de pacientes asmáticos, a média dos níveis plasmáticos de IL-2 e IL-6 foram diminuídas, enquanto IFN- γ , IL-4 e TNF- α foram aumentadas. Depois de acupuntura IFN- γ , IL-2, IL-4 e IL-6 foram elevados e TNF- α foi reduzida. Estes resultados indicam que Acupuntura Koryo tem um efeito bom no tratamento da asma e na melhora do sistema imune, e que a sua ação pode ser devido a regulação da produção de citocinas (38).

Na rinite alérgica, concentrações plasmáticas de IL-2, IL-6 e IL-10 foram determinados antes e depois da acupuntura, em comparação com controles saudáveis. Em todos os pacientes afetados por rinite alérgica, os níveis de IL-10 estavam aumentados antes da acupuntura verdadeira, acupuntura sham (grupo que recebeu acupuntura falsa) e nos pacientes que não receberam tratamento. No grupo da acupuntura verdadeira a IL-10 foi encontrada reduzida. Por outro lado, naqueles pacientes tratados com placebo de acupuntura, bem como em pacientes não tratados, os valores de IL-10 mantiveram-se elevados e inalterados. Desse modo, conclui-se que o tratamento com acupuntura pode reduzir os níveis plasmáticos de IL-10 na rinite alérgica crônica (39).

1.3 OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar os efeitos de um protocolo de intervenção de acupuntura sobre a sintomas psicológicos, qualidade do sono e aspectos imunológicos em idosos aparentemente saudáveis.

Objetivos específicos

- Avaliar a qualidade do sono pré e pós protocolo de intervenção de acupuntura nos idosos.
- Investigar parâmetros da carga emocional (estresse e depressão) pré e pós protocolo de intervenção de acupuntura nos idosos.
- Investigar os aspectos imunológicos pré e pós protocolo de intervenção de acupuntura nos idosos.

2. CAPITULO 2

2.1. ARTIGO CIENTÍFICO

Submetido para o *Journal of Sleep Research (Qualis Capes A2 Interdisciplinar)*

ACUPUNCTURE FOR SLEEP QUALITY AND IMMUNOSENESCENCE: A RANDOMIZED CONTROLLED STUDY

CARINA ZUPPA^{1,3}; CARINE H. DO PRADO¹; ALINE ZAPARTE¹; ANDRESSA
BARBOSA¹; MOISÉS EVANDRO BAUER^{1,2,3}.

¹Laboratory of Immunosenescence, Institute of Biomedical Research, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre (RS), Brazil

²Faculty of Biosciences, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre (RS), Brazil

³Institute of Geriatrics and Gerontology, (PUCRS), Porto Alegre (RS), Brazil

RUNNING HEAD: Acupuncture for sleep and immunity during aging

WORD COUNT: 2831 (excl. references) – 40 references

AUTHOR CONTRIBUTORSHIP: CZ was the acupuncturist, analyzed the data and wrote the manuscript; CHP, ZA and AB participated in data collection and analysis, wrote the manuscript; MEB designed the study, analyzed the data and wrote the manuscript.

Corresponding author: Dr. Moisés E. Bauer, Laboratory of Immunosenescence, Institute of Biomedical Research, Hospital São Lucas – PUCRS, Av. Ipiranga 6690, 2º andar – PO Box 1429, 90.610–000 Porto Alegre, RS, Brazil. Tel.: +55 51 33203000. E-mail: mebauer@pucrs.br .

ABSTRACT

Poor sleep in elderly populations is associated with detrimental physical, psychological and physiological changes including premature immunosenescence. Interventions aimed to alleviate stress may be thus valuable to mitigate the impact on the sleep quality and immune system during aging. Here, we evaluated the effectiveness of acupuncture in ameliorating the quality of sleep, psychological distress and immunosenescence in older adults. Forty-eight community-dwelling older adults were randomized into true (n=24) or placebo (n=24) acupuncture. The intervention consisted of ten sessions (twice weekly) and the acupoints involved were the SP6 (*sanyinjiao*), LI4 (*hegu*), ST36 (*zusanli*), LR3 (*taichong*), PC6 (*neiguan*), and EX-NH3 (*yintang*). Placebo needles (placebo group) were also inserted at superficial sites far from true acupuncture points. Subjects were examined before and after the intervention. The quality of sleep, depression and stress scores were evaluated by the Pittsburgh Sleep Quality index (PSQI), Beck Depression Inventory (BDI II) and Perceived Stress Scale, respectively. Peripheral blood mononuclear cells were isolated and lymphocytes immunophenotyped for CD4+ T cells, CD8+ T cells, B cells, natural killer cells, and activated and regulatory T cells. Both groups were homogenous at baseline. Acupuncture was highly effective for improving the quality of sleep (-53.23%; $p < 0.01$), depression (-48.41%; $p < 0.01$), and stress (-25.46%; $p < 0.01$). However, no changes were observed across the lymphocytes following the intervention. In conclusion, the acupuncture was effective for improving the quality of sleep and attenuating psychological distress in the elderly. Further studies are needed to investigate the impact of acupuncture on immunity.

Keywords: Aging, depression, stress, lymphocytes, acupuncture, immunity.

INTRODUCTION

Sleep is essential for maintaining a healthy lifestyle, influencing psychosocial and physiological conditions (Luo et al. 2013). The elderly populations are at particular risk of sleep-related pathologies and poor quality of sleep is frequently related with waking up several times during sleep, difficulty in falling asleep, reduction of hours of sleep and getting up earlier than usual (Bollinger et al. 2010). Poor sleep in elderly populations can lead to detrimental physical, psychological and physiological changes (Maglione et al. 2012; Lo & Lee 2012) such as increased cortisol levels (Copinschi & Caufriez 2013), decreased melatonin (Lemoine et al. 2007) and premature immunosenescence (Bollinger et al. 2010).

Immunosenescence is associated with restructuring changes in both enumerative and functional cellular activities during aging (Bauer & De la Fuente 2008; Ostan et al. 2008). According to previous studies, healthy aging has been associated with increased psychological distress and correlated premature aging of the immune system (Bauer et al. 2009; Morimoto & Alexopoulos 2011). It has also been shown that stress significantly impairs the quality of sleep (Kulmala et al. 2013; Teraoka et al. 2013) and poor sleep has been associated with several immune changes mimicking early immunosenescence, including functional changes of antigen-presenting cells (Dimitrov et al. 2007), regulatory T cells, and reduced NK, T and B cells (Heiser et al. 2000; Bollinger & Bollinger 2009; Besedovsky et al. 2012). Some authors claim that sleep and the circadian system are strong regulators of immunological processes (Bollinger et al. 2010). Therefore, interventions aimed at alleviating stress in the elderly may also ameliorate the quality of sleep and associated immune measures.

Recently, the effects of acupuncture in promoting relaxation and modulating immunosenescence have been investigated. A previous preliminary study by our group reported the beneficial effects of acupuncture in attenuating psychological distress and immunosenescence in the elderly (Pavão et al. 2010). Regarding the latter, acupuncture was highly effective for restoring T-cell proliferation, an important feature of cellular senescence, to those levels found in young adults. However, the main effects were not duly controlled as no placebo group was employed. Acupuncture has also been shown to be beneficial for several immune functions,

including T cells, B cells and NK cells (Johnston et al. 2011; Yamaguchi et al. 2007). However, previous studies did not investigate the impact of acupuncture on sleep quality and associated immunological markers. In addition, because of poorly executed studies, problems in the selection criteria and a lack of control groups (Liu et al. 2011; Cassidy 2009), the mechanisms of action of acupuncture and its physiological effects are not clearly understood.

The main objective of this work is to investigate the effects of acupuncture on stress levels, quality of sleep and cellular immunosenescence in healthy elderly subjects.

METHODS

Study design

This is a randomized, single-blind analytical study with intervention. We followed the ReBEC (Brazilian Registry for Clinical Trials) recommendations in the designing and reporting of controlled trials.

Subjects

One hundred and forty-five adults were recruited from an ad in the local newspaper. The subjects contacted us and provided more information about the survey, subsequently scheduling the first interview. Subjects were contacted by phone to address the general health status of the selection criteria. Inclusion criteria were being older than 60 years, being in good health and having time available to perform the intervention. Exclusion criteria were current or recent use of benzodiazepines or other drugs for the treatment of insomnia and depression; use of glucocorticoids; chronic inflammatory conditions, current infections, neoplasias, heart, renal, gastrointestinal, lung, neurodegenerative, hematological or endocrine diseases; immunodeficiencies; mood disorders; and undernourishment. Acupuncture

treatment was provided free of charge, including for those interested in the placebo group at the end of the study protocol.

Forty-eight older adults were randomly assigned to placebo acupuncture (n=24) and true acupuncture (n=24). All subjects included in the study were informed about the study procedures. All information collected that could identify the patient was kept confidential and all subjects provided their written informed consent before inclusion in the study, approved by the Ethical Committees of PUCRS.

Intervention

Subjects were instructed that they would be randomly assigned to two groups: traditional (true) acupuncture or placebo acupuncture. Elderly subjects with previous experience with acupuncture were allocated to the true acupuncture group. Due to the nature of this intervention, it was not possible to blind the only acupuncturist in this study.

The questionnaires and the data were analyzed by staff research assistants who were blinded to the group allocation protocol. To characterize the study sample, socio-demographic data and information on the clinical status of the elderly were obtained through questionnaires and completed at the first contact with the elderly. Blood samples were drawn before and two days following the last session to assess immune parameters along with sleep and psychological questionnaires (Yeung et al. 2011; Yeung et al. 2009).

The acupuncture treatment was performed at the outpatient elderly clinic of the Institute of Geriatrics and Gerontology of São Lucas Hospital (Porto Alegre, Brazil). The interventions were performed on individuals lying down on a stretcher. Sterile disposable needles were inserted at points SP6 (*sanyinjiao*), LI4 (*hegu*), ST36 (*zusanli*), LR3 (*taichong*), PC6 (*neiguan*), and EX-NH3 (*yintang*) (Figure 1). Each session lasted for 25 minutes and the needles were frequently stimulated. The frequency was twice weekly sessions, and there were ten sessions in total. This treatment duration was chosen to examine the short-term effects of acupuncture (Pavão et al. 2010).

Traditional acupuncture and placebo acupuncture were performed by a licensed acupuncturist with previous experience. In the sham group, placebo needles were inserted at sites far from true acupuncture points. The insertion depth was minimal and superficial. These points were not stimulated and the frequency of treatment was the same as the true acupuncture group.

FIGURE 1 HERE

Measures

Levels of stress and depression, quality of sleep, and immune measures were monitored at two points in this study: before the first session and two days after the last acupuncture session.

The Beck Depression Inventory (BDI) is a self-report scale with 21 items, each with four possible answers, corresponding to increasing levels of severity of depression, which are assigned scores between 0 and 3. The scoring varied from 0 to 63, corresponding to the intensity of the symptoms of depression, which was classified accordingly to minimal (0–11), mild (12–19), moderate (20–35) or severe (36–63) (Gomes-Oliveira et al. 2012; Wang & Gorenstein 2013).

The Perceived Stress Scale was translated into Portuguese and consisted of 14 questions. The inventory has been shown to be easy and reliable for measuring perceived stress, showing adequate psychometric qualities (Andrade 2007).

The Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) is a questionnaire that provides quantitative and qualitative information on sleep, translated and validated for the Portuguese (Bertolazi et al. 2011). It was developed by DJ Buysse in 1989 (Buysse, DJ, Reynolds CF, Monk TH, Berman SR 1989) and evaluates the quality of sleep compared to the previous month. It was developed with the goal of providing a standardized measure of sleep quality that is easy to answer and interpret (Bertolazi et al. 2011). The score ranges from 0 to 21 points, corresponding to good quality of

sleep (0–4), bad sleep (5–10) and suggesting the presence of a sleep disorder (> 10).

Blood collection and lymphocyte isolation

Ten milliliters of peripheral blood were collected by venipuncture and stored in EDTA tubes prior to analyses. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were isolated by density gradient centrifugation (30 min at 900 g). Cells were counted by means of microscopy (100 x) and viability always exceeded 95%, as judged from their ability to exclude Trypan Blue (Sigma, St Louis, MO). PBMCs were resuspended in buffer saline and adjusted to yield a final concentration of 2×10^5 cells/well (do Prado et al. 2012).

Immunophenotyping

A comprehensive panel of lymphocyte subsets commonly associated with stress or sleep impairment was identified by multicolor flow cytometry. In order to evaluate specific lymphocyte subsets, cells were stained for 30 min with combinations of the following monoclonal antibodies: anti-CD3 FITC (T cells), anti-CD4 PE and FITC (helper T cells), anti-CD8 PE (cytotoxic T cells), anti-CD19 PE (B cells), anti-CD56 FITC (NK cells), anti-CD28 FITC (regulatory/senescence T cells), and anti-CD69 FITC (early activated cells), all from BD Biosciences, San Jose, CA, USA. Immediately after staining, cells were washed, resuspended and analyzed by flow cytometry. A minimum of 20,000 lymphocytes were identified by size (FSC) and granularity (SSC) and acquired with an FACS Canto II flow cytometer (BD Biosciences). Data were analyzed using the Flowjo 7.2.5 software (Tree Star Inc., Ashland, Or, USA).

Statistical analyses

All variables were tested for homogeneity of variance and normality of distribution by means of the Levene and Kolmogorov-Smirnov tests, respectively. For continuous variables, differences were assessed by independent or paired T tests. The Wilcoxon test was employed when variables assumed a non-normal distribution. Differences in proportions between groups were compared by means of the chi-square (χ^2) test. Statistical analyses were conducted using the Statistical Package for Social Sciences, SPSS Statistics 18.0 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The significance level was set at $\alpha=0.05$.

RESULTS

Socio-demographic and psychological data at baseline

Socio-demographic characteristics of the study population are shown in Table 1. Elderly subjects randomized into true or placebo acupuncture groups were homogenous regarding the demographic and clinical characteristics at baseline (all $p > 0.05$). None of them were smokers. However, both groups reported poor quality of sleep (Table 1), with mean global PSQI scores higher than five.

TABLE 1 HERE

Efficacy of quality of sleep, stress and depression

At baseline, both placebo and true acupuncture groups reported similar levels of stress, depression and sleep quality (Table 1). The acupuncture significantly reduced the PSQI scores (-53.23%; $p<0.01$), indicating a significant improvement in the sleep quality (Figure 2A). Furthermore, true acupuncture was effective in attenuating stress (-25.46%; $p<0.01$) and depression scores (-48.41%; $p<0.01$), suggesting a relaxation effect (Figure 2A). No significant changes were observed in the placebo group (Figure 2B).

FIGURE 2 HERE

Immunosenescence markers

We investigated a comprehensive set of lymphocyte subpopulations commonly associated with aging, stress or sleep disturbances. At baseline, both placebo and true acupuncture groups reported similar percentages of lymphocyte subsets (data not shown). Furthermore, the immunological parameters did not vary following the placebo or true intervention (Table 2). We also investigated the independent relationships between psychological/PSQI scores and lymphocyte subsets at baseline and following the intervention. No significant correlations were noted between variables at baseline or following placebo acupuncture. However, perceived stress scores (PSS) were found negatively correlated with CD3+CD4+ (Th) cells following the true acupuncture ($r = -0.47$, $p = 0.006$); a similar statistical trend was observed for depression scores (BDI) and CD3+CD4+ T cells following the true acupuncture ($r = -0.37$, $p = 0.08$).

TABLE 2 HERE

DISCUSSION

To the best of our knowledge, this is the first study to address the effects of acupuncture on sleep quality, psychological stress and immunological markers during aging. A randomized, placebo-controlled study allowed us to demonstrate the real effects of acupuncture.

Our major findings indicate that acupuncture was highly effective in improving sleep quality and promoting relaxation in the healthy elderly. These data are in agreement with other studies using traditional acupuncture (Yeung et al. 2011; Pavão

et al. 2010; Arranz et al. 2007). Stressful and depressive events are deleterious for the general health of elderly populations because of their effects in promoting bad lifestyles, sleep disturbances, poor cognitive functioning, and poor physical health, and exacerbating chronic inflammatory conditions (Seib et al. 2014). This is the first randomized, placebo-controlled study to address the impact of acupuncture on quality of sleep or relaxation in the elderly. The findings concerning the quality of sleep are consistent with previous studies involving young adults with sleep disturbances including residual or primary insomnia (Yeung et al. 2011; Cao et al. 2009; Gao et al. 2013; Tu et al. 2012; Hachul et al. 2013).

Sun (2013), in a six-week intervention study with major depressive disorder (MDD), found similar antidepressive effects of electroacupuncture (EA) as compared to fluoxetine-treated patients. EA had a faster onset of action, better response rate, and better improvement rate than fluoxetine. Interestingly, both fluoxetine and EA treatment restored the normal concentration of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in the serum of MDD patients. GDNF plays an important role in the pathogenesis of MDD and might be a biomarker for damage to nerve cells. Interestingly, that study employed similar acupoints to ours (i.e. ST36, SP6, PC6, and LR3) (Sun et al. 2013). In summary, acupuncture can be a good intervention method for ameliorating psychological distress and depressive symptoms, thereby promoting relaxation and well-being.

Previous studies have reported the positive effects of acupuncture in several aspects of immunity (Ye et al. 2007; Pavão et al. 2010). However, no changes in peripheral lymphocyte subsets were observed here following the intervention. We investigated lymphocyte subpopulations commonly associated with aging, stress or sleep disturbances. Several lines of evidence suggest that sleep regulation and immune responses are linked (Krueger 2008). A previous preliminary work from our group, using a similar protocol, showed that acupuncture significantly augmented the T-cell proliferation in the elderly to those levels found in young adults (Pavão et al. 2010). It should be kept in mind that enumerative changes in peripheral lymphocytes are not necessarily related to correspondent functional changes, and vice versa. Therefore, future studies shall investigate both phenotypic markers and functional assays to better describe the role of acupuncture for immunosenescence. Elderly populations with stronger immunity live longer and impaired immune responses are

correlated with increased morbidity and mortality in the elderly (Ostan et al. 2008). Besedovsky and colleagues (2012) have already demonstrated that adequate sleep helps fight infection and improves the immunity after vaccinations (Besedovsky et al. 2012). Moreover, some infections require more sleep intensity (Preston et al. 2009). Interestingly, an increase in sleep duration was strongly associated with an increased number of circulating immune cells (Preston et al. 2009). Thus, sleep can not only help recovery from infections, but also increases the strength of the immune system.

This study had some limitations. First, we do not measure potential side effects. In general, the use of acupuncture for the treatment of patients with sleep disorders, depression and stress-related disorders shows good adherence to its high efficiency because the only major side effect is (tolerable) pain. Second, our sample size was relatively small and a stronger statistical power may be necessary to demonstrate the beneficial effects of acupuncture for immunosenescence. Thirdly, blood samples were collected only at the beginning and at the end of treatment. Therefore we could not demonstrate the potential immune-related changes during the treatment. Finally, in future trials, additional biomarkers, including cytokines, hormones, and functional assays, should also be investigated.

In conclusion, the rigorous methodology employed in this study ensured the reliability of the results concerning the improved quality of sleep and relaxation effects involved with acupuncture during aging. New studies are needed to investigate the impact of acupuncture on immunity, especially in elderly populations at risk of several pathologies and infections related to decrements described during immunosenescence.

Acknowledgments

This work was supported by grants from CNPq (MEB, APB) and CAPES (CZ, AZ and CHP). The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

- Luft, C. D. B., Sanches, S. D. O., Mazo, G.Z. and Andrade, A. Versão brasileira da escala de estresse percebido: tradução e validação para idosos. *Rev. Saúde Pública*, 2007, 41: 606–615.
- Arranz, L., Guayerbas, N., Siboni, L. and De la Fuente, M. Effect of acupuncture treatment on the immune function impairment found in anxious women. *Am. J. Chin. Med.*, 2007, 35:35–51.
- Bauer, M.E., Jeckel, C.M.M. and Luz, C. The role of stress factors during aging of the immune system. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2009, 1153:139–152.
- Bauer, M.E. and De la Fuente, M. An introduction to neuroimmunomodulation and aging. *Neuroimmunomodulation*, 2008, 15: 211–213.
- Bertolazi, A. N., Fagondes, S. C., Hoff, L. S. et al. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Pittsburgh Sleep Quality Index. *Sleep Med.*, 2011, 12: 70-75.
- Besedovsky, L., Lange, T. and Born, J. Sleep and immune function. *Eur. J. Physiol.*, 2012, 463: 121–137.
- Bollinger, T., Bollinger, A., Oster, H. and Solbach, W. Sleep, immunity, and circadian clocks: a mechanistic model. *Gerontology*, 2010, 56: 574–580.
- Bollinger, T., Bollinger, A., Skrum, L., Dimitrov, S., Lange, T. and Solbach, W. Sleep dependent activity of T cells and regulatory T cells. *Am. J. Clin. Exp. Immunol.*, 2009, 155: 231–238.
- Buysse, D. J., Reynolds, C. F., III, Monk, T. H., Berman, S. R. and Kupfer, D. J. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res.*, 1989, 28: 193-213.
- Cao, H., Pan, X., Li, H. and Liu, J. Acupuncture for treatment of insomnia: a systematic review of randomized controlled trials. *J. Altern. Complement. Med.*, 2009, 15: 1171–1186.
- Cassidy, C.M. Moffet on the similarity of response to “active” and “sham” acupuncture. *J. Altern. Complement. Med.*, 2009, 15: 209–210.
- Copinschi, G. and Caufriez, A. Sleep and hormonal changes in aging. *Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.*, 2013, 42: 371–389.
- Dimitrov, S., Lange, T., Nohroudi, K. and Born, J. Number and function of circulating human antigen presenting cells regulated by sleep. *Sleep*, 2007, 30: 401–411.

- Gao, X., Xu, C., Wang, P. et al. Curative effect of acupuncture and moxibustion on insomnia: a randomized clinical trial. *J. Tradit. Chin. Med.*, 2013, 33: 428–432.
- Gomes-Oliveira M. H., Gorenstein, C., Neto, F. L., Andrade, L. H. and Wang, Y. P. Validation of the Brazilian Portuguese Version of the Beck Depression Inventory-II in a community sample. *Rev. Bras. Psiquiat.*, 2012, 34: 389–394.
- Hachul, H., Garcia, T. K. P., Maciel, A. L., Yagihara, F., Tufik, S. and Bittencourt, L. Acupuncture improves sleep in postmenopause in a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Climacteric*, 2013, 16: 36–40.
- Heiser, P., Dickhaus, B., Schreiber, W. et al. White blood cells and cortisol after sleep deprivation and recovery sleep in humans. *Eur. Arch. Psychiatry. Clin. Neurosci.*, 2000, 250: 16–23.
- Johnston, M. F., Ortiz, S. E., Vujanovic, N. L. and Li, W. Acupuncture May Stimulate Anticancer Immunity via Activation of Natural Killer Cells. *Evid. Based. Complement Alternat. Med.*, 2011, 2011: 481625.
- Krueger, J.M. The role of cytokines in sleep regulation. *Curr. Pharm. Des.*, 2008, 14: 3408–3416.
- Kulmala, J., von Bonsdorff, M.B., Stenholm, S. et al. Perceived stress symptoms in midlife predict disability in old age: a 28-year prospective cohort study. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.*, 2013, 68: 984–991.
- Van Leeuwen, W.M.A., Lehto, M., Karisola, P. et al., Sleep restriction increases the risk of developing cardiovascular diseases by augmenting proinflammatory responses through IL-17 and CRP. *PloS one*, 2009, 4: e4589.
- Lemoine, P., Nir, T., Laudon, M. and Zisapel, N. Prolonged-release melatonin improves sleep quality and morning alertness in insomnia patients aged 55 years and older and has no withdrawal effects. *J. Sleep. Res.*, 2007, 16: 372–380.
- Liu, Y., Yang, S., Dai, J. et al. Risk of bias tool in systematic reviews/meta-analyses of acupuncture in Chinese journals. *PloS one*, 2011, 6: e28130.
- Lo, C.M.H. and Lee, P.H. Prevalence and impacts of poor sleep on quality of life and associated factors of good sleepers in a sample of older Chinese adults. *Health and quality of life outcomes*, 2012, 10: 72.
- Luo, J., Zhu, G., Zhao, Q. et al. Prevalence and risk factors of poor sleep quality among Chinese elderly in an urban community: results from the Shanghai aging study. *PloS one*, 2013, 8: e81261.
- Maglione, J.E. Ancoli-israel, S., Peters, K.W. et al. Depressive Symptoms and Subjective And Objective Sleep In Community-Dwelling Older Women. *J. Am. Geriatr. Soc.*, 2012, 60: 635–643.

- Morimoto, S. and Alexopoulos, G. Immunity, aging, and geriatric depression. *Psychiatr. Clin. North.*, 2011, 34: 437–449.
- Ostan, R., Bucci, L., Capri, M. et al. Immunosenescence and immunogenetics of human longevity. *Neuroimmunomodulation*, 2008, 15: 224–240.
- Pavão, T. S., Vianna, P., Pillat, M. M., Machado, A. B. and Bauer, M. E. Acupuncture is effective to attenuate stress and stimulate lymphocyte proliferation in the elderly. *Neurosci. Lett.*, 2010, 484: 47–50.
- Do Prado, C. H., Rizzo, L. B., Wieck, A. et al. Reduced regulatory T cells are associated with higher levels of Th1/TH17 cytokines and activated MAPK in type 1 bipolar disorder. *Psychoneuroendocrinology*, 2012, 38: 667–676.
- Preston, B.T., Capellini, I., McNamara, P., Barton, R. A. and Nunn, C. Parasite resistance and the adaptive significance of sleep. *BMC Evol. Biol.*, 2009, 9: 7.
- Seib, C., Whiteside, E., Lee, K. et al. Stress, lifestyle, and quality of life in midlife and older Australian women: results from the stress and the health of women study. *Womens Health Issues*, 2014, 24: 43–52.
- Sun, H., Zhao, H., Ma, C. et al. Effects of electroacupuncture on depression and the production of glial cell line-derived neurotrophic factor compared with fluoxetine: a randomized controlled pilot study. *J. Altern. Complement. Med.*, 2013, 19: 733–739.
- Teraoka, S., Hayashida, N., Shinkawa, T. et al. Good stress management capability is associated with lower body mass index and restful sleep in the elderly. *Tohoku J. Exp. Med.*, 2013, 229: 5–10.
- Tu, J. H., Chung, W. C., Yang, C. Y. and Tzeng, D. S. A comparison between acupuncture versus zolpidem in the treatment of primary insomnia. *Asian Journal of Psychiatry*, 2012, 5: 231–235.
- Wang, Y. P. and Gorenstein, C. Psychometric properties of the Beck Depression Inventory-II: a comprehensive review. *Rev. Bras. Psiquiatr.*, 2013, 35: 416–431.
- Yamaguchi, N., Takahashi, T., Sakuma, M. et al. Acupuncture regulates leukocyte subpopulations in human peripheral blood. *Evid. Based. Complement. Alternat. Med.*, 2007, 4: 447–453.
- Ye, F., Liu, D., Wang, S. and Xu, L. Effects of electro-acupuncture on T cell subpopulations, NK activity, humoral immunity and leukocyte count in patients undergoing chemotherapy. *J. Tradit. Chinese Med.*, 2007, 27: 19–21.
- Yeung, W. F., Chung, K. F., Zhang, S. P., Yap, T. G. and Law, A. C. K. Electroacupuncture for primary insomnia: a randomized controlled trial. *Sleep*, 2009, 32: 1039–1047.

Yeung, W. F., Chung, K.F., Tso, K. C., Zhang, S. P., Zhang, Z. J. and Ho, L. M. Electroacupuncture for residual insomnia associated with major depressive disorder: a randomized controlled trial. *Sleep*, 2011, 34: 807–815.

FIGURE LEGENDS

Figure 1. Acupoints involved in this intervention. A: EX-NH3 (*yintang*); B: PC6 (*neiguan*); C: SP6 (*sanyinjiao*); D: LI4 (*hegu*); E: LR3 (*taichong*); and F: ST36 (*zusanli*).

Figure 2. (A) Main effects of true acupuncture for depression, stress and sleep quality. (B) Main effects of placebo acupuncture for depression, stress and sleep quality. Statistically significant differences are indicated: *** $p < 0.0001$ and * $p < 0.01$. Data were analyzed by paired T tests.

Table 1. Characteristics of the studied populations at baseline.

	True Acupuncture	Placebo Acupuncture	P-value
Age, yrs (mean \pm SD)	67.13 \pm 4.9	65.75 \pm 3.8	0.33
Sex, male/female	5/19	5/19	0.94
BMI (mean \pm SD)	26.04 \pm 4.6	24.37 \pm 6.2	0.62
Education (yrs)	14 \pm 2.5	13.29 \pm 2.8	0.24
Monthly income (\$)	2,475.26	2,413.36	0.93
Alcohol use (yes/no)	7/17	11/13	0.20
Physical exercise (hours/week)	3.03 \pm 2.0	2.42 \pm 2.4	0.44
Stress (basal)	20.75 \pm 7.3	20.21 \pm 10.1	0.08
Depression (basal)	13.46 \pm 7.1	11.67 \pm 6.6	0.97
PSQI (basal)	8.04 \pm 4.0	7.63 \pm 3.71	0.74

Data shown as mean (M) \pm standard deviation (SD). Abbreviations: BMI, body mass index. PSQI, Pittsburgh Sleep Quality Index. Data were analyzed by Student t test or chi-square (χ^2) test.

Figure 1.

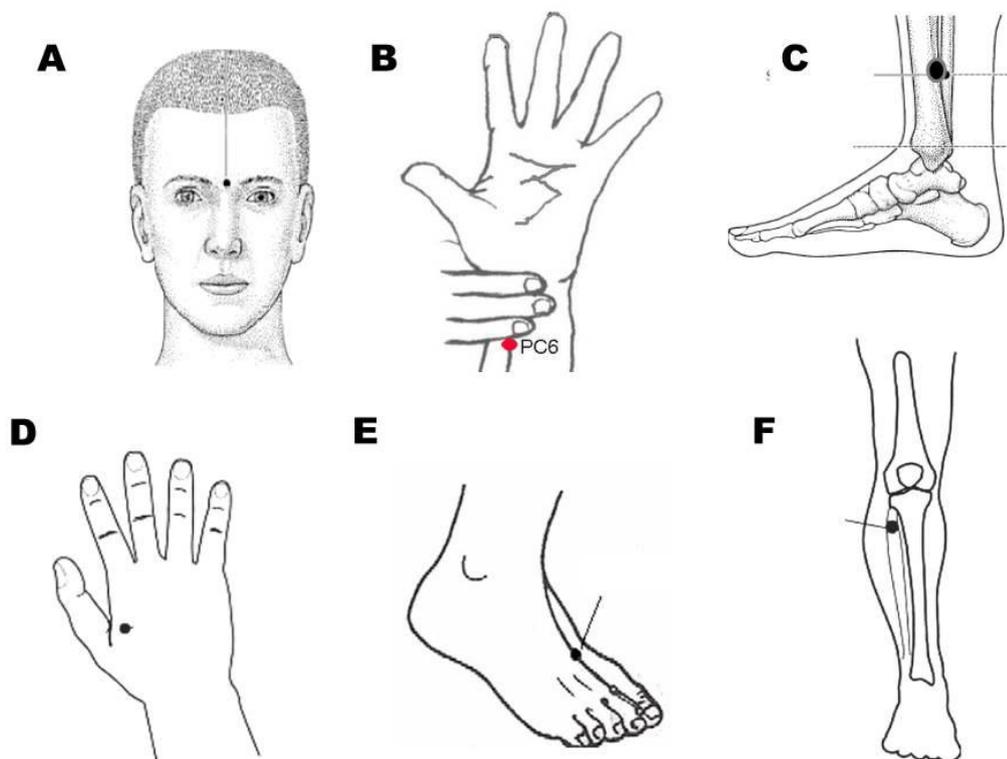


Figure 2:

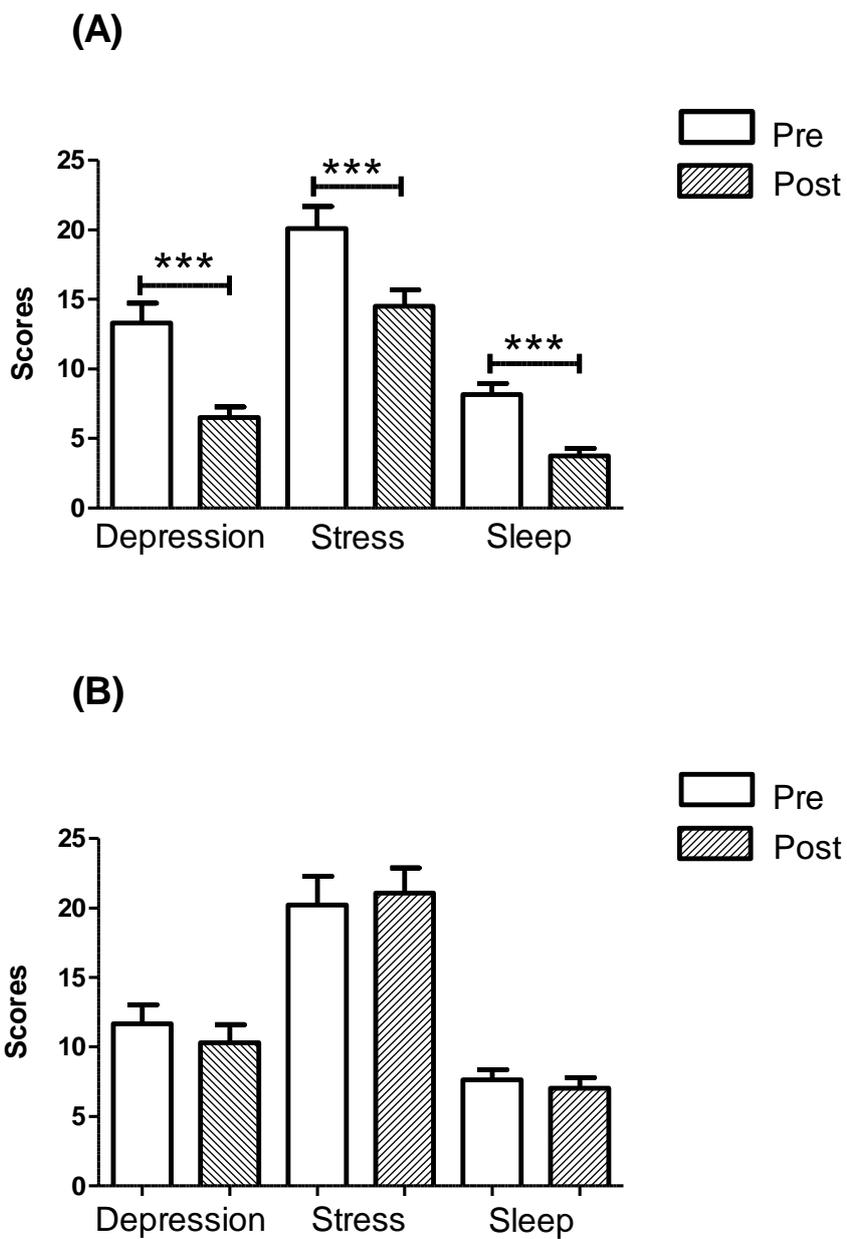


Table 2. Immunophenotyping of lymphocyte subsets. Data were analyzed by paired T tests and results are shown as percentage of positive markers (mean \pm SE).

Markers	Cell Type	True Acupuncture	P-value	Placebo Acupuncture	P-value
CD3+CD4+ (Pre)	Th	49.12 \pm 2.31	0.76	48.99 \pm 1.6	0.32
CD3+CD4+ (Post)		48.33 \pm 2.09		46.45 \pm 1.8	
CD3+CD8+ (Pre)	Tc	19.52 \pm 3.6	0.29	22.62 \pm 2.0	0.81
CD3+CD8+ (Post)		23.17 \pm 2.6		21.94 \pm 3.0	
CD3-CD19+ (Pre)	B	8.08 \pm 1.25	0.91	8.0 \pm 1.0	0.09
CD3-CD19+ (Post)		8.24 \pm 0.8		10.6 \pm 1.5	
CD3-CD56+ (Pre)	NK	12.22 \pm 2.1	0.41	14.72 \pm 1.8	0.12
CD3-CD56+ (Post)		14.75 \pm 1.9		12.47 \pm 1.1	
CD4+CD25+ (Pre)	Activated T cell	11.20 \pm 5.20	0.45	6.49 \pm 1.1	0.34
CD4+CD25+ (Post)		7.04 \pm 0.98		5.13 \pm 0.7	
CD3+CD69+ (Pre)	Activated T cell	0.66 \pm 0.1	0.99	0.68 \pm 0.1	0.25
CD3+CD69+ (Post)		0.66 \pm 0.1		0.55 \pm 0.1	
CD8+CD28- (Pre)	Regulatory T cell	20.11 \pm 3.5	0.57	17.38 \pm 1.6	0.56
CD8+CD28- (Post)		18.31 \pm 1.3		16.20 \pm 1.7	
CD8+CD28+ (Pre)	Activated T Cell	9.95 \pm 2.0	0.57	11.7 \pm 1.4	0.29
CD8+CD28+ (Post)		8.65 \pm 1.0		9.1 \pm 1.3	

Abbreviations: Th=T helper cell; Tc=T cytotoxic cell. Statistically significant differences are indicated (T test for related samples and Wilcoxon test for samples not normal): * $p < 0.05$, *** $p < 0.01$.

3. CAPÍTULO 3

3.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados apresentados nessa dissertação apoiam a hipótese da acupuntura contribuir no tratamento do estresse, depressão e na melhora da qualidade do sono.

Embora existam estudos prévios que mostram bons resultados da acupuntura para estresse, depressão e qualidade do sono, esse é o primeiro trabalho que verificou relações entre o sistema imunológico e qualidade do sono, estresse e depressão. A qualidade do sono bem como os sintomas psicológicos foram evidenciados pela aplicação de questionários específicos. Estes questionários nos forneceram escores de avaliação do índice de qualidade do sono (PSQI) e índices de estresse e depressão (Escala de estresse percebido e BDI-II). Além disso, nós pudemos constatar que não houve relação entre a melhora dos escores e as porcentagens de subtipos linfocitários (CD3+CD4+; CD3+CD8+; CD3-CD19+; CD3-CD56+; CD4+CD25+; CD3+CD69+; CD8+CD28-; CD8+CD28+). Estudos experimentais (13) que avaliaram a proliferação de linfócitos em tratamento de acupuntura para sintomas de estresse e depressão concluíram que acupuntura pode influenciar a proliferação de linfócitos. Provavelmente, em nosso trabalho o tempo de tratamento *versus* porcentagem dos linfócitos foi um viés, outro detalhe talvez seja, a falta de dosagem de alguns subtipos de linfócitos e também a relação da idade do nosso grupo de pacientes (idosos com idade média de 67 anos) com relação à idade média de indivíduo de outros grupos de pesquisa que correlacionaram acupuntura e linfócitos (13,41). Em seu estudo Bossy indicou que a resposta a uma única sessão de acupuntura mostra um atraso de 12-24 horas e permanece em vigor por 5-7 dias, com relação a este estudo, nossa pesquisa não demonstrou o efeito da acupuntura em curto prazo, visto que os pacientes passaram por um período maior de sessão e não foram avaliados estes parâmetros em diversos períodos da pesquisa, este também possa ter sido outro ponto deficitário (42).

Embora alguns estudos tenham relacionado acupuntura à melhora da qualidade do sono (30,32,43,44), nenhum estudo aborda o uso da acupuntura na qualidade do sono, monitorando marcadores de imunossenescência e linfócitos ligados ao sono, por este motivo, nosso estudo tem sido pioneiro nesta

área, sendo de grande importância que mais estudos possam dar sequência a esta linha de pesquisa e avaliar melhor a influência da acupuntura nestes marcadores.

A depressão e o estresse crônico são caracterizados por imunossenescência precoce (8,19,45). Com base nisso, alterações quantitativas e fenotípicas podem ser observadas na subpopulação de células imunológicas periféricas. Neste estudo, verificamos que a acupuntura pode melhorar a depressão e o estresse, e os nossos resultados estão de acordo com outros estudos em acupuntura, mas discordamos de dois estudos em que a acupuntura não teve resultado em transtorno depressivo em relação ao seu grupo placebo (46,47). Entretanto não encontramos relação com a diminuição de subtipos linfocitários que caracterizam o processo de imunossenescência, sendo assim, estudos futuros serão necessários para dar sequência a esta investigação, visto que é de extrema importância analisar os efeitos a longo prazo, (meses de tratamento de acupuntura) e assim correlacionar a melhora ao longo tempo do processo de imunossenescência.

3.2 CONCLUSÃO

Levando em consideração o exposto, os achados deste trabalho corroboram com estudos anteriores que observaram a melhora dos escores de estresse e depressão, nossos dados respondem aos objetivos iniciais, pois além de contribuir para a melhora da qualidade do sono, a acupuntura também melhorou os escores de estresse e depressão, este trabalho também possibilitou a investigação dos marcadores imunológicos. No entanto, mais estudos a respeito desta relação deveriam ser realizados com o objetivo de verificar se a acupuntura influencia as células imunes. O desenho experimental deste estudo não permitiu responder esta questão, mas desperta para a necessidade de explorar melhor essas relações.

REFERÊNCIAS

1. Peres A, Nardi N, Chies J. Imunossenescência—O envolvimento das células T no envelhecimento. *Biociências*. 2006;11(2):187–94.
2. Bauer ME, Jeckel CMM, Luz C. The role of stress factors during aging of the immune system. *Ann N Y Acad Sci*. 2009;1153:139–52.
3. Luz C, Dornelles F, Preissler T, Collaziol D, da Cruz IM, Bauer ME. Impact of psychological and endocrine factors on cytokine production of healthy elderly people. *Mech Ageing Dev*. 2003 Aug;124(8-9):887–95.
4. Ostan R, Bucci L, Capri M, Salvioli S, Scurti M, Pini E, et al. Immunosenescence and immunogenetics of human longevity. *Neuroimmunomodulation*. 2008 Jan;15(4-6):224–40.
5. Louren M, Medeiros M, Marcon SS. Qualidade de sono de trabalhadores obesos de um hospital universitário: acupuntura como terapia complementar. *Rev Esc Enferm USP*. 2012;46(1):82–8.
6. Maglione JE, Ancoli-israel S, Peters KW, Paudel L, Yaffe K, Ensrud KE, et al. Depressive Symptoms and Subjective And Objective Sleep In Community-Dwelling Older Women. *J Am Geriatr Soc*. 2012;60(4):635–43.
7. Seib C, Whiteside E, Lee K, Humphreys J, Dao Tran TH, Chopin L, et al. Stress, lifestyle, and quality of life in midlife and older Australian women: results from the stress and the health of women study. *Womens Health Issues [Internet]*. Jacobs Institute of Women’s Health; 2014;24(1):e43–52.
8. Morimoto S, Alexopoulos G. Immunity, aging, and geriatric depression. *Psychiatr Clin North*. 2011;34(2):437–49.
9. Bauer ME. Chronic stress and immunosenescence: a review. *Neuroimmunomodulation*. 2008 Jan;15(4-6):241–50.
10. Besedovsky L, Lange T, Born J. Sleep and immune function. *Eur J Physiol*. 2012 Jan;463(1):121–37. Available from:
11. Bollinger T, Bollinger A. Sleep dependent activity of T cells and regulatory T cells. *Clin Exp Immuno* 2009 Feb;155(2):231–8.
12. Graham JE, Christian LM, Kiecolt-Glaser JK. Stress, age, and immune function: toward a lifespan approach. *J Behav Med*. 2006 Aug;29(4):389–400.
13. Pavão TS, Vianna P, Pillat MM, Machado AB, Bauer ME. Acupuncture is effective to attenuate stress and stimulate lymphocyte proliferation in the elderly. *Neurosci Lett*. 2010 Oct;484(1):47–50.

14. Galvão O, Ferreira L, Maciel SC, Maria S, Costa G, Oliveira A, et al. ACTIVE AGING AND ITS RELATIONSHIP TO FUNCTIONAL INDEPENDENCE. *Texto Context - enferm.* 2012;21(3):513–8.
15. Araújo C, Ceolim M. Sleep quality of elders living in long-term care institutions. *Rev da Esc Enferm da USP.* 2010;44(3):615–22.
16. Maria M, Martino F De. Estudo comparativo de padrões de sono em trabalhadores de enfermagem dos turnos diurno e noturno. *Rev Panam Salud Publica.* 2002;12(2):95–100.
17. Oliveira BHD, Yassuda MS, Bretas APF, Neri AL. Relations between sleep patterns, perceived health and socioeconomic variables in a sample of community resident elders – PENSEA Study. *Saúde Coletiva [Internet].* 2010;15(3):851–60.
18. Sarah CL, Araújo JF. O sono e os transtornos do sono na depressão. *Rev Psiquiatr Clín.* 2007;34(6):285–9.
19. Sansoni P, Vescovini R, Fagnoni F, Biasini C, Zanni F, Zanlari L, et al. The immune system in extreme longevity. *Exp Gerontol.* 2008;43(2):61–5.
20. Franceschi C, Bonafè M. Centenarians as a model for healthy aging. *Biochem Soc Trans.* 2003;31(2):457–61.
21. Gouin J-P, Hantsoo L, Kiecolt-Glaser JK. Immune dysregulation and chronic stress among older adults: a review. *Neuroimmunomodulation.* 2008;15(4-6):251–9.
22. Johnston MF, Ortiz Sánchez E, Vujanovic NL, Li W. Acupuncture May Stimulate Anticancer Immunity via Activation of Natural Killer Cells. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2011 Jan;2011:481625.
23. Choi EM, Jiang F, Longhurst JC. Point specificity in acupuncture. *Chinese Medicine.* 2012. p. 4.
24. Zhao C-H, Stillman MJ, Rozen TD. Traditional and evidence-based acupuncture in headache management: theory, mechanism, and practice. *Headache.* 2005;45(6):716–30.
25. Ma S-X. Neurobiology of Acupuncture: Toward CAM. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2004 Jun 1;1(1):41–7.
26. Medeiros R De, Saad M. Acupuntura: efeitos fisiológicos além do efeito placebo. *O Mundo da Saúde.* 2009;33(1):69–72.
27. Lewith GT, White PJ, Pariente J. Investigating acupuncture using brain imaging techniques: the current state of play. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2005 Sep;2(3):315–9.

28. Kondo T, Kawamoto M. Acupuncture and moxibustion for stress-related disorders. *Biopsychosoc Med*. 2014 Jan;8(1):7.
29. Sun H, Zhao H, Ma C, Bao F, Zhang J, Wang D, et al. Effects of electroacupuncture on depression and the production of glial cell line-derived neurotrophic factor compared with fluoxetine: a randomized controlled pilot study. *J Altern Complement Med*. 2013 Sep;19(9):733–9.
30. Yeung W-F, Chung K-F, Zhang S-P, Yap T-G, Law ACK. Electroacupuncture for primary insomnia: a randomized controlled trial. *Sleep*. 2009 Aug;32(8):1039–47.
31. Qu S-S, Huang Y, Zhang Z-J, Chen J-Q, Lin R-Y, Wang C-Q, et al. A 6-week randomized controlled trial with 4-week follow-up of acupuncture combined with paroxetine in patients with major depressive disorder. *J Psychiatr Res*. Elsevier Ltd; 2013 Jun;47(6):726–32.
32. Gao X, Xu C, Wang P, Ren S, Zhou Y. Curative effect of acupuncture and moxibustion on insomnia: a randomized clinical trial. *J Tradit*. 2013; 33(4):428–32.
33. Yeung W-F, Chung K-F, Tso K-C, Zhang S-P, Zhang Z-J, Ho L-M. Electroacupuncture for residual insomnia associated with major depressive disorder: a randomized controlled trial. *Sleep*. 2011 Jun;34(6):807–15.
34. Ye F, Liu D, Wang S, Xu L. Effects of electro-acupuncture on T cell subpopulations, NK activity, humoral immunity and leukocyte count in patients undergoing chemotherapy. *J Tradit Chinese Med*. 2007 Mar;27(1):19–21.
35. Yamaguchi N, Takahashi T, Sakuma M, Sugita T, Uchikawa K, Sakaiharu S, et al. Acupuncture regulates leukocyte subpopulations in human peripheral blood. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2007 Dec;4(4):447–53.
36. Yim Y-K, Lee H, Hong K-E, Kim Y-I, Lee B-R, Son C-G, et al. Electro-acupuncture at acupoint ST36 reduces inflammation and regulates immune activity in Collagen-Induced Arthritic Mice. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2007 Mar;4(1):51–7.
37. Wang K, Wu H, Wang G, Li M, Zhang Z, Gu G. The effects of electroacupuncture on TH1/TH2 cytokine mRNA expression and mitogen-activated protein kinase signaling pathways in the splenic T cells of traumatized rats. *Anesth Analg*. 2009 Nov;109(5):1666–73.
38. Jeong H-J, Kim B-S, Oh JG, Kim K-S, Kim H-M. Regulatory effect of cytokine production in asthma patients by SOOJI CHIM (Koryo Hand Acupuncture Therapy). *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2002;24(2):265–74.
39. Petti FB, Liguori A, Ippoliti F. Study on cytokines IL-2, IL-6, IL-10 in patients of chronic allergic rhinitis treated with acupuncture. *J Tradit Chin Med*. 2002;22(2):104–11.

40. Do Prado CH, Rizzo LB, Wieck A, Lopes RP, Teixeira AL, Grassi-Oliveira R, et al. Reduced regulatory T cells are associated with higher levels of Th1/TH17 cytokines and activated MAPK in type 1 bipolar disorder. *Psychoneuroendocrinology*. 2012;38(5):667–76.
41. Arranz L, Guayerbas N, Siboni L, De la Fuente M. Effect of acupuncture treatment on the immune function impairment found in anxious women. *Am J Chin Med*. 2007 Jan;35(1):35–51.
42. Bossy J. Immune Systems, Defense Mechanisms and Acupuncture: Fundamental and Practical Aspects. *Am J Acupunct*. 1990;18(3):219–32.
43. Hachul H, Garcia TKP, Maciel AL, Yagihara F, Tufik S, Bittencourt L. Acupuncture improves sleep in postmenopause in a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Climacteric*. Informa Healthcare Stockholm; 2013 Feb;16(1):36–40.
44. He D, Høstmark AT, Veiersted KB, Medbø JI. Effect of intensive acupuncture on pain-related social and psychological variables for women with chronic neck and shoulder pain – an RCT with six month and three year follow up. 2005;23(2):52–61.
45. Bauer ME, De la Fuente M. An introduction to neuroimmunomodulation and aging. *Neuroimmunomodulation* [Internet]. 2008 Jan;15(4-6):211–2.
46. Andreescu C, Glick RM, Emeremni CA, Houck PR, Mulsant BH. Acupuncture for the treatment of major depressive disorder: a randomized controlled trial. *J Clin Psychiatry*. 2011;72(8):1129–35.
47. Allen JJB, Schnyer RN, Chambers AS, Hitt SK, Moreno FA, Manber R. Acupuncture for depression: a randomized controlled trial. *J Clin Psychiatry*. 2006;67(11):1665–73.

Sofre de alguma doença crônica? (Ex.: hipertensão, neoplasia, diabetes, hepatite C)

() Sim () Não

Qual? _____

	SIM	NÃO
Infecções nas últimas duas semanas		
Inflamações (agudas ou crônicas)		
Doenças auto-imunes		
Cardiopatias		
Hipertensão arterial		
Desnutrição		
Anemia		
Depressão com diagnóstico clínico		
Doenças neurodegenerativas		
Neoplasias		
Uso de hormônios (glicocorticóides)		

Tem hábito de fazer atividades físicas?
(ex.: exercícios aeróbicos ou atividades em casa)

() Sim () Não

Realiza quantas horas de exercício físico diário ou semanal?

() Diário: _____ horas () Semanal: _____ horas

BDI-II

Nome: _____ Idade: _____

Registro: _____ Data: _____

Instruções: Este questionário consiste em 21 grupos de afirmações. Por favor, leia cada um deles cuidadosamente. Depois, escolha um de cada grupo, o que melhor descreva o modo como você tem se sentido nas **últimas duas semanas, incluindo o dia de hoje**. Marque com um círculo o número correspondente à afirmação escolhida. Verifique se não marcou mais de uma afirmação.

<p>1. Tristeza</p> <ul style="list-style-type: none">0 Não me sinto triste1 Me sinto triste grande parte do tempo.2 Estou triste o tempo todo.3 Estou tão triste ou tão infeliz que não consigo suportar. <p>2. Pessimismo</p> <ul style="list-style-type: none">0 Não estou desanimado (a) a respeito do meu futuro.1 Eu me sinto mais desanimado (a) a respeito do meu futuro do que de costume.2 Não espero que as coisas dêem certo para mim.3 Sinto que não há esperança quanto ao meu futuro. Acho que só vai piorar. <p>3. Fracasso passado</p> <ul style="list-style-type: none">0 Não me sinto um (a) fracassado (a).1 Tenho fracassado mais do que deveria.2 Quando penso no passado vejo muitos fracassos.3 Sinto que como pessoa sou um fracasso total. <p>4. Perda de prazer</p> <ul style="list-style-type: none">0 Continuo sentindo o mesmo prazer que sentia com as coisas de que eu gosto.1 Não sinto tanto prazer com as coisas como costumava sentir.2 Tenho muito pouco prazer nas coisas que eu costumava gostar.3 Não tenho mais nenhum prazer nas coisas que costumava gostar. <p>5. Sentimentos de culpa</p> <ul style="list-style-type: none">0 Não me sinto particularmente culpado (a).1 Eu me sinto culpado(a) a respeito de várias coisas que fiz e/ou que deveria ter feito.2 Eu me sinto culpado(a) a maior parte do tempo.3 Eu me sinto culpado(a) todo o tempo.	<p>6. Sentimentos de punição</p> <ul style="list-style-type: none">0 Não sinto que estou sendo punido(a).1 Sinto que posso ser punido(a).2 Eu acho que serei punido(a).3 Sinto que estou sendo punido(a). <p>7. Autoestima</p> <ul style="list-style-type: none">0 Eu me sinto como sempre me senti em relação a mim mesmo(a).1 Perdi a confiança em mim mesmo(a).2 Estou desapontado(a) comigo mesmo(a).3 Não gosto de mim. <p>8. Autocrítica</p> <ul style="list-style-type: none">0 Não me critico nem me culpo mais do que o habitual.1 Estou sendo mais crítico(a) comigo mesmo(a) hoje do que costumava ser.2 Eu me critico por todos os meus erros.3 Eu me culpo por tudo de ruim que acontece. <p>9. Pensamentos ou desejos suicidas</p> <ul style="list-style-type: none">0 Não tenho nenhum pensamento de me matar.1 Tenho pensamentos de me matar, mas não levaria isso a diante.2 Gostaria de me matar.3 Eu me mataria se tivesse oportunidade. <p>10. Choro</p> <ul style="list-style-type: none">0 Não choro mais do que chorava antes.1 Choro mais agora do que costumava chorar.2 Choro por qualquer coisinha.3 Sinto vontade de chorar, mas não consigo.
---	---

11. Agitação

- 0 Não me sinto mais inquieto(a) ou agitado(a) do que me sentia antes.
- 1 Eu me sinto mais inquieto(a) ou agitado(a) do que me sentia antes.
- 2 Eu me sinto tão inquieto(a) ou agitado(a) que é difícil ficar parado(a).
- 3 Estou tão inquieto(a) ou agitado(a) que tenho que estar sempre me mexendo ou fazendo alguma coisa.

12. Perda de interesse

- 0 Não perdi o interesse por outras pessoas ou por minhas atividades.
- 1 Estou menos interessado pelas outras pessoas ou coisas do que costumava estar.
- 2 Perdi quase todo o interesse por outras pessoas ou coisas.
- 3 É difícil me interessar por algo.

13. Indecisão

- 0 Tomo minhas decisões tão bem quanto antes.
- 1 Acho mais difícil tomar decisões agora do que antes.
- 2 Tenho muito mais dificuldades em tomar decisões agora do que antes.
- 3 Tenho dificuldades pra tomar qualquer decisão.

14. Desvalorização

- 0 Não me sinto sem valor.
- 1 Não me considero hoje tão útil ou não me valorizo como antes.
- 2 Eu me sinto com menos valor quando me comparo com outras pessoas.
- 3 Eu me sinto completamente sem valor.

15. Falta de energia

- 0 Tenho tanta energia hoje como sempre tive.
- 1 Tenho menos energia do que costumava ter.
- 2 Não tenho energia suficiente para fazer muita coisa.
- 3 Não tenho energia suficiente para nada.

16. Alterações no padrão de sono

- 0 Não percebi nenhuma mudança no meu sono.
- 1a Durmo um pouco mais do que o habitual.
- 1b Durmo um pouco menos do que o habitual.
- 2a Durmo muito mais do que o habitual.
- 2b Durmo muito menos do que o habitual.
- 3a Durmo a maior parte do dia.
- 3b Acordo 1 ou 2 horas mais cedo e não consigo voltar a dormir.

17. Irritabilidade

- 0 Não estou mais irritado(a) do que o habitual.
- 1 Estou mais irritado(a) do que o habitual.
- 2 Estou muito mais irritado(a) do que o habitual.
- 3 Fico irritado(a) o tempo todo.

18. Alterações de apetite

- 0 Não percebi nenhuma mudança no meu apetite.
- 1a Meu apetite está um pouco menor do que o habitual.
- 1b Meu apetite está um pouco maior do que o habitual.
- 2a Meu apetite está muito menor do que antes.
- 2b Meu apetite está muito maior do que antes.
- 3a Não tenho nenhum apetite.
- 3b Quero comer o tempo todo.

19. Dificuldade de concentração

- 0 Posso me concentrar tão bem quanto antes.
- 1 Não posso me concentrar tão bem como habitualmente.
- 2 É muito difícil pra mim manter a concentração em alguma coisa por muito tempo.
- 3 Eu acho que não consigo me concentrar em nada.

20. Cansaço ou fadiga

- 0 Não estou mais cansado(a) ou fadigado(a) do que o habitual.
- 1 Fico cansado(a) ou fadigado(a) mais facilmente do que o habitual.
- 2 Eu me sinto cansado(a) ou fadigado(a) para fazer muitas das coisas que costumava fazer.
- 3 Estou me sentindo muito cansado(a) ou fadigado(a) para fazer a maioria das coisas que costumava fazer.

21. Perda de interesse por sexo

- 0 Não notei qualquer mudança recente no meu interesse por sexo.
- 1 Estou menos interessado(a) em sexo do que costumava estar.
- 2 Estou muito menos interessado(a) em sexo agora.
- 3 Perdi completamente o interesse por sexo.

ESCALA DE ESTRESSE PERCEBIDO

Nome: _____ Idade: _____

Registro: _____ Data: _____

Itens e instruções para aplicação

As questões nesta escala perguntam sobre seus sentimentos e pensamentos durante o último mês. Em cada caso, será pedido para você indicar o quão freqüentemente você tem se sentido de uma determinada maneira. Embora algumas das perguntas sejam similares, há diferenças entre elas e você deve analisar cada uma como uma pergunta separada. A melhor abordagem é responder a cada pergunta razoavelmente rápido. Isto é, não tente contar o número de vezes que você se sentiu de uma maneira particular, mas indique a alternativa que lhe pareça como uma estimativa razoável. Para cada pergunta, escolha as seguintes alternativas:

0= nunca

1= quase nunca

2= às vezes

3= quase sempre

4= sempre

Neste último mês, com que freqüência...						
1	Você tem ficado triste por causa de algo que aconteceu inesperadamente?	0	1	2	3	4
2	Você tem se sentido incapaz de controlar as coisas importantes em sua vida?	0	1	2	3	4
3	Você tem se sentido nervoso e "estressado"?	0	1	2	3	4
4	Você tem tratado com sucesso dos problemas difíceis da vida?	0	1	2	3	4
5	Você tem sentido que está lidando bem as mudanças importantes que estão ocorrendo em sua vida?	0	1	2	3	4
6	Você tem se sentido confiante na sua habilidade de resolver problemas pessoais?	0	1	2	3	4
7	Você tem sentido que as coisas estão acontecendo de acordo com a sua vontade?	0	1	2	3	4
8	Você tem achado que não conseguiria lidar com todas as coisas que você tem que fazer?	0	1	2	3	4
9	Você tem conseguido controlar as irritações em sua vida?	0	1	2	3	4
10	Você tem sentido que as coisas estão sob o seu controle?	0	1	2	3	4
11	Você tem ficado irritado porque as coisas que acontecem estão fora do seu controle?	0	1	2	3	4
12	Você tem se encontrado pensando sobre as coisas que deve fazer?	0	1	2	3	4
13	Você tem conseguido controlar a maneira como gasta seu tempo?	0	1	2	3	4
14	Você tem sentido que as dificuldades se acumulam a ponto de você acreditar que não pode superá-las?	0	1	2	3	4

Índice de Qualidade do Sono de PITTSBURGH
em versão Português do Brasil (PSQI – BR)

Nome: _____ Idade: _____

Registro: _____ Data: _____

Instruções:

As seguintes perguntas são relativas aos hábitos usuais de sono durante o último mês somente. Suas respostas devem indicar a lembrança mais exata da maioria dos dias e noites do último mês. Por favor, responda a todas as perguntas.

1) Durante o último mês, quando você foi geralmente para a cama a noite?

Horário usual de deitar: _____:

2) Durante o último mês, quanto tempo (minutos) você geralmente levou para dormir a noite?

Número de minutos: _____

3) Durante o último mês, quando você geralmente levantou de manhã?

Hora usual de levantar: _____:

4) Durante o último mês, quantas horas de sono você teve por noite? (pode ser diferente do número de horas que você ficou na cama)

Horas de sono por noite: _____

Para cada uma das questões restantes, marque a melhor (uma) resposta. Por favor responda a todas as questões.

5) Durante o último mês , com que frequência você teve dificuldade de dormir por você...

a) Não conseguir adormecer em até 30 minutos

- nenhuma vez no último mês menos de uma vez por semana
 uma ou duas vezes por semana três vezes por semana ou mais

b) Acordou no meio da noite ou de manhã cedo

- nenhuma vez no último mês menos de uma vez por semana
 uma ou duas vezes por semana três vezes por semana ou mais

c) Precisou levantar para ir ao banheiro

- nenhuma vez no último mês menos de uma vez por semana
 uma ou duas vezes por semana três vezes por semana ou mais

d) Não conseguiu respirar confortavelmente

- nenhuma vez no último mês menos de uma vez por semana
 uma ou duas vezes por semana três vezes por semana ou mais

e) Tossiu ou roncou forte

- nenhuma vez no último mês menos de uma vez por semana
 uma ou duas vezes por semana três vezes por semana ou mais

f) Sentiu muito frio

nenhuma vez no último mês

menos de uma vez por semana

uma ou duas vezes por semana

três vezes por semana ou mais

g) Sentiu muito calor

nenhuma vez no último mês

menos de uma vez por semana

uma ou duas vezes por semana

três vezes por semana ou mais

h) Teve sonhos ruins

nenhuma vez no último mês

menos de uma vez por semana

uma ou duas vezes por semana

três vezes por semana ou mais

i) Teve dor

nenhuma vez no último mês

menos de uma vez por semana

uma ou duas vezes por semana

três vezes por semana ou mais

j) Outra razão, por favor, descreva:

Com que frequência, durante o último mês, você teve dificuldade para dormir devido a essa razão?

nenhuma vez no último mês

menos de uma vez por semana

uma ou duas vezes por semana

três vezes por semana ou mais

6) Durante o último mês passado, como você classificaria a qualidade do seu sono de uma maneira geral?

Muito boa ruim

Boa muito ruim

7) Durante o último mês passado, com que frequência você tomou medicamento (prescrito ou “por conta própria”) para lhe ajudar a dormir?

nenhuma vez no último mês menos de uma vez por semana

uma ou duas vezes por semana três vezes por semana ou mais

Qual(is)?

8) No último mês, com que frequência você teve dificuldade de ficar acordado enquanto dirigia, comia, ou participava de alguma atividade social (festa, reunião de amigo, trabalho, estudo)?

nenhuma vez no último mês menos de uma vez por semana

uma ou duas vezes por semana três vezes por semana ou mais

9) Durante o último mês, quão problemático foi para você manter o entusiasmo (ânimo) para fazer as coisas (suas atividades habituais)?

Nenhuma dificuldade

Um problema muito leve

Um problema razoável

Um problema muito grande

10) Você tem um(a) parceiro [esposo(a)] ou colega de quarto?

- Não
- Parceiro ou colega mas em outro quarto
- Parceiro no mesmo quarto, mas não na mesma cama
- Parceiro na mesma cama

Se você tem um parceiro ou colega de quarto pergunte a ele/ela com que frequência no último mês você teve...

a) Ronco forte

- nenhuma vez no último mês
- menos de uma vez por semana
- uma ou duas vezes por semana
- três vezes por semana ou mais

b) Longas paradas na respiração enquanto dormia

- nenhuma vez no último mês
- menos de uma vez por semana
- uma ou duas vezes por semana
- três vezes por semana ou mais

c) Contrações ou puxões nas pernas enquanto dormia

- nenhuma vez no último mês
- menos de uma vez por semana
- uma ou duas vezes por semana
- três vezes por semana ou mais

d) Episódios de desorientação ou confusão durante o sono

() nenhuma vez no último mês () menos de uma vez por semana

() uma ou duas vezes por semana () três vezes por semana ou mais

e) Outras alterações (inquietações) enquanto você dorme; por favor descreva:

() nenhuma vez no último mês () menos de uma vez por semana

() uma ou duas vezes por semana () três vezes por semana ou mais

Escore Total: _____

A pontuação tem amplitude entre 0-21 pontos;

Sendo que escores de **0-4 classificam uma boa qualidade de sono;**

5-10 uma qualidade ruim de sono;

superior a 10 presença de algum distúrbio do sono;

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



Carta da chefia do Instituto de Geriatria e Gerontologia;

Orçamento;

Link para o currículo Lattes dos pesquisadores;

Projeto de pesquisa;

Recomendações:

As questões levantadas no parecer anterior foram respondidas satisfatoriamente.

Sugere-se a adequação do cronograma e o posterior envio ao CEP.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências relatadas no parecer anterior foram respondidas.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Parecer do Relator aceito pelo colegiado.

PORTO ALEGRE, 11 de Março de 2013

Assinador por:
Rodolfo Herberto Schneider
(Coordenador)

Endereço: Av. Ipiranga, 6681

Bairro:

UF: RS

Telefone: (51)320-3345

Município: PORTO ALEGRE

Fax: (51)320-3345

CEP: 90.619-900

E-mail: cep@pucrs.br

Moises Evandro Bauer

De: onbehalfof+esrs.bk+online.de@manuscriptcentral.com em nome de esrs.bk@online.de
Enviado em: quinta-feira, 6 de março de 2014 16:18
Para: Moises Evandro Bauer
Assunto: Journal of Sleep Research - Manuscript ID JOSR-14-088

06-Mar-2014

Dear Dr. Bauer:

Your manuscript entitled "Acupuncture for sleep quality and immunosenescence: a randomized controlled study" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the Journal of Sleep Research. As a first step the Editorial Office will check over the files you have submitted to ensure that they meet our submission guidelines.

Your manuscript ID is JOSR-14-088. If you have submitted a revised version of a previous submission, your manuscript ID will end in .R1, .R2, etc..

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <http://mc.manuscriptcentral.com/josr> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <http://mc.manuscriptcentral.com/josr>.

Thank you for submitting your manuscript to the Journal of Sleep Research.

Best regards,
Journal of Sleep Research Editorial Office