

O exercício físico e as células natural killer: uma revisão sistemática da literatura

Physical exercise and the natural killer cells: a systematic review

Fabiano Dall'Asta Rigo¹
Moacir Pereira Junior¹
Daiane da Rosa¹
Francisco Navarro²
Fabio Henrique Ornellas³

Palavras-chave

Células natural killer
Sistema imunológico
Exercício físico

Keywords

Natural killer
Immune system
Exercise

Resumo

A célula natural killer, linfócito atuante no sistema inato, tem como função destruir células tumorais ou infectadas por vírus. Essas células podem sofrer alterações com o exercício físico, qualitativa e quantitativamente, fato este que não é bem estabelecido na literatura. A presente revisão tem por objetivo descrever a influência do exercício físico na contagem e função das células natural killer (NK). Foi realizada uma busca em bases de dados internacionais, na qual 916 estudos originais com seres humanos relacionados ao exercício físico e às células NK foram encontrados, porém apenas 21 estudos atenderam a proposta do estudo. Observar-se na literatura que não há um consenso sobre a influência do exercício sobre a contagem e a função das células NK. Essas diferenças nas respostas podem ser explicadas pelos diferentes protocolos de exercícios físicos, bem como pelos diferentes métodos de contagem dessas células. A intensidade e a duração do exercício físico, em uma ampla margem, podem influenciar quantitativa e qualitativamente as células natural killer. Contudo, as características do estímulo físico ofertado permeiam as respostas das células natural killer.

Abstract

The natural killer cell, lymphocyte active in the innate system, serves to destroy tumor cells or virus-infected. These cells are subject to change with physical exercise, qualitatively and quantitatively, this fact is not well established in the literature. The aim of this review is to describe the influence of physical exercise in the count and function of natural killer cells. We performed a search in international databases, in which 916 original studies in humans related physical exercise and natural killer cells were found, but only 21 studies met the study proposal. It can be seen in the literature that there is no consensus on the influence of exercise on the count and function of natural killer cells. These differences in the responses can be explained by the different protocols of physical exercise. The intensity and duration of exercise, may affect quantitative and qualitative natural killer cells. However, the features of the physical stimulus offered permeate the responses of natural killer cells.

Trabalho realizado na Universidade Gama Filho (UFG-RJ) – Rio de Janeiro (RJ), Brasil; e na Universidade do Estado de Santa Catarina (UESC) – Florianópolis (SC), Brasil;

¹Especialista em Fisiologia do Exercício pela UFG – Rio de Janeiro (RJ), Brasil.

²Doutor em Ciências pela Universidade de São Paulo (USP) – São Paulo (SP), Brasil.

³Mestre em Ciências da Saúde pela Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – São Paulo (SP), Brasil.

Endereço para correspondência: Moacir Pereira Junior – Rua Doralice Ramos de Pinho, 262, apto 302 – CEP: 88111-310 – São José (SC), Brasil – E-mail: moa.pereira@hotmail.com

Conflito de interesses: não há.

Introdução

O sistema imunológico é o mecanismo de defesa contra agentes agressores, agindo de forma organizada em oposição a agentes infecciosos e quaisquer outras possíveis ameaças. Esse sistema é composto por alguns órgãos, células e moléculas, que são responsáveis por respostas específicas ou não específicas¹ (C), e ainda, é característico por sua complexidade, visto a interação no funcionamento dos mecanismos de reposta. Esses mecanismos são precisamente coordenados para proteger os tecidos corporais contra agentes patogênicos² (B) e, entre estes, este sistema conta com a ação das células natural killer (NK), tipo de célula que é destacado neste estudo¹ (C).

As células NK são uma classe de linfócitos e, tem como principais funções a destruição de células tumorais ou infectadas por vírus. Isso se dá devido à capacidade que essas células têm de reconhecer alterações na membrana plasmática de células anormais¹. Entre os linfócitos presentes no organismo humano, as células NK representam aproximadamente 10% da contagem total^{1,3} (C).

As células NK ativadas respondem de duas formas: destruir células infectadas e ativar macrófagos. Primeiramente, secretam uma proteína chamada perforina, responsável pela criação de poros na membrana plasmática, e enzimas denominadas granzimas, capazes de entrar através dos poros e induzir a morte celular por apoptose¹ (C).

O exercício físico pode alterar a contagem e a função das células NK, como exemplo, a atividade citotóxica das células NK (NKCA). Essa alteração depende do tipo de exercício, da intensidade, da duração e do nível de treinamento de cada indivíduo⁴ (C). Isso se deve ao fato de que as células NK apresentam notável sensibilidade ao estresse promovido pelo exercício físico, o qual promove sua redistribuição do sangue periférico para os outros tecidos, sugerindo que as células NK pode ser um potencial elo entre exercício físico regular e o estado de saúde geral. Entretanto, durante exercícios muito prolongados a concentração de células NK circulantes pode tornar-se menor do que os valores basais⁵ (C).

As células NK, com o estímulo agudo, são as únicas que podem aumentar até cinco vezes sua contagem sérica em relação aos níveis basais, e ainda, existe uma discussão se o exercício físico é capaz de alterar o gene destas células e seu microRNA (miRNA)⁶ (B). Sabe-se que exercícios físicos induzem a produção de Interleucina 2 (IL-2) no microambiente do tumor, resposta que, consequentemente, auxilia o recrutamento das células NK para a regressão do câncer⁷ (C).

Apesar de muita pesquisa sobre os efeitos do exercício físico no número e na função das células NK, parece haver muita controvérsia⁸ (D). Devido a isso, a presente revisão tem por objetivo descrever a influência do exercício físico na contagem e função das células NK.

Metodologia

Para esta revisão foram utilizados os bancos de dados do MEDLINE (PubMed) SciELO, LILACS e IBICS entre o período 01 de outubro de 2012 a 28 de fevereiro de 2013. Na pesquisa, foram utilizados os unitermos “*exercise*”, “*physical activity*”, “*resistance training*”, “*endurance training*”, “*natural killer*”, “*natural killer cells*”, “*leucocytes cont*” e “*immune system*” em inglês e português. Para o cruzamento das palavras foram criados dois grupos, sendo que o primeiro grupo continha os quatro primeiros termos e o segundo os quatro últimos. Todo cruzamento deveria conter uma palavra do primeiro grupo, a palavra “AND”, e uma palavra do segundo grupo, de maneira que todas as palavras do primeiro grupo se cruzassem com as do segundo. Nesse sentido, foram incluídos apenas estudos originais com modelo humano, sendo excluídos aqueles com modelo animal e artigos não dispostos na íntegra. Dado isso, realizaram-se 16 buscas para cada idioma em cada banco de dados, totalizando 128 buscas. Além das consultas realizadas aos bancos de dados, foram consultados 2 livros de imunologia em português para fundamentação científica.

A Figura 1 mostra a seleção dos estudos e como eles foram relacionados com o tema da pesquisa — foi utilizado o fluxograma no modelo Prisma Checklist. Como resultado das pesquisas foi encontrado um total de 916 referências — 151 artigos foram removidos por duplicação. Oitocentos e dez artigos foram então selecionados, entre eles, 110 foram excluídos por serem artigos em idioma que não fossem inglês ou português, além dos que não estavam relacionados com o sistema imunológico. Após análise dos artigos, restaram 700 elegíveis para consulta. Do total de artigos em condições de serem consultados, restaram 19 que tratam o assunto desta revisão. Foram excluídos 120 estudos com desenho animal e 558 resumos de artigos.

Discussão

Sabe-se que o exercício físico, tanto estímulo agudo quanto crônico, pode promover mudanças na concentração, proporção e na função das células NK⁸ (D). Nesse sentido, três protocolos de treinamento físico foram comparados em oito homens saudáveis. Independente do tipo e da intensidade do treinamento, houve aumento significativo na contagem de células NK circulantes

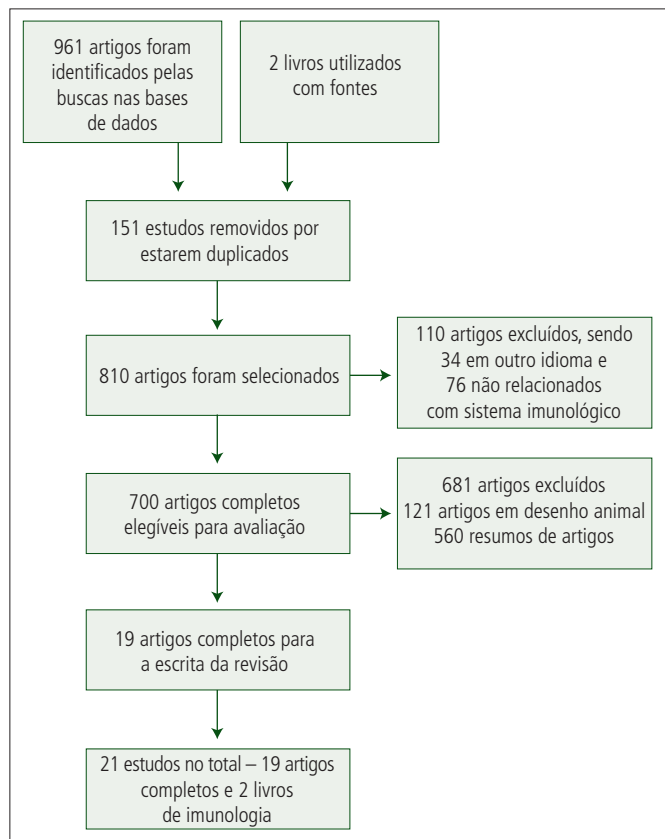


Figura 1 - Fluxograma do resultado da busca nas fontes de informação, da seleção e da inclusão dos estudos na revisão sistemática.

imediatamente depois do exercício, provando que os exercícios aeróbios e os exercícios resistidos podem provocar aumentos nas células NK. No entanto, todos os valores voltaram aos basais 3 horas pós-exercício⁹ (A). O estudo mencionado denota que as alterações quantitativas e qualitativas nas células NK são advindas de uma diversidade de protocolos.

Além da variedade de protocolos, características fisiológicas também somam às particularidades impostas pelo exercício físico na variação das células NK, conforme se observa em um estudo que comparou os parâmetros do sistema imune em pacientes com distúrbios térmicos (EHI) e, em indivíduos que sofreram a mesma carga de exercício em situação similar e não sofreram EHI. Como resultado os pesquisadores constataram que houve o aumento significativamente maior na contagem das células NK no grupo que sofreu EHI em comparação ao grupo controle¹⁰ (B). Tal observação denota a importância de, possivelmente, compreender o estado fisiológico do indivíduo para que se estabeleça uma relação na contagem e na atividade das células NK.

A atividade da célula natural killer (NKCA) também é foco das pesquisas. Treze homens realizaram exercício no cicloergômetro a uma intensidade de 75% do VO_{2pico} por 60 minutos.

O número total de células T e NK foi significativamente maior imediatamente pós-exercício e diminuído duas horas pós-exercício, quando comparado ao repouso. Esse número se normalizou quatro horas pós-exercício. Além disso, a NKCA obteve uma melhora significativa imediatamente pós-exercício e uma redução duas e quatro horas pós-exercício¹¹ (B). Porém em treinamento intenso e prolongado com atletas de voleibol, a contagem de leucócitos não se modificou e a NKCA diminuiu significativamente com o fim de cada sessão de treinamento, com recuperação pós-treinamento¹² (B). Entretanto, em uma sessão de 4 horas em uma intensidade de 70% do limiar anaeróbio não há modificações significativas na NKCA durante todo o estudo¹³ (B).

Outro aspecto, ainda pouco investigado, é a hipótese que o exercício pode alterar o gene das células NK e o microRNA. Nesse sentido, 13 homens saudáveis foram analisados em 10 baterias de 2 minutos em bicicleta ergométrica em uma média de 77% de VO_{2max} , com 1 minuto de descanso entre as baterias. O sangue foi coletado antes e imediatamente após o teste de exercício. Uma abordagem estatística foi utilizada para determinar quais alterações significantes foram causadas pelo exercício na expressão de 986 genes e 23 miRNAs. Os dados encontrados apoiam a hipótese de que o exercício afeta o gene e o padrão miRNA e células NK⁶ (B). Tal achado maximiza a possibilidade de variáveis em que o estímulo físico pode influenciar na resposta das células NK.

Tratando-se de diversidade fisiológica, um estudo com crianças investigou os efeitos do exercício intenso nas sub-populações de linfócitos. Foram analisados 11 meninos treinados em lutas. O protocolo de treinamento foi 1 sessão de lutas intensa com duração de 1 hora e 30 minutos. Como resultado, foi observado um aumento significativo no número dos leucócitos no sangue, incluindo as células NK¹⁴ (B). Contudo em adolescentes, após pedalar durante 40 minutos com intensidade equivalente a 70% do VO_{2pico} há uma diminuição na contagem das células NK entre 30 e 60 minutos após o estímulo do exercício¹⁵ (B).

Um estudo realizado com 6 jovens saudáveis consistiu na realização de corrida gradual na esteira até a exaustão no tempo máximo de 30 minutos. Como resultado, foi observado que uma sessão de exercício aeróbio exaustivo induziu mudanças significativas nas células NK, sendo que sua contagem aumentou bastante imediatamente após o exercício e caiu abaixo dos níveis basais uma hora após cessar os estímulo¹⁶ (B).

Os últimos estudos mencionados, analisando crianças e adolescentes, reforçam a hipótese das particularidades fisiológicas nas alterações agudas destas células, uma vez que esses grupos apresentam particularidades ímpares em relação aos adultos.

No tocante ao treinamento aeróbio, 18 homens atletas foram avaliados em um programa de corrida contínua em esteira a 70% do VO_{2pico} por um tempo de no máximo 90 minutos ou até atingir a fadiga. O estudo encontrou uma grande diferença na contagem das células NK, nas quais observou um aumento de 85% imediatamente pós-exercício e uma diminuição de 66% do nível de repouso após 1 hora e meia do término do exercício¹⁷ (B). Contudo, convergências foram observadas em atletas de ciclismo de rua, uma vez que esses aumentos das células NK em estímulo agudo também são relatados após baterias de 40 km¹⁸ (B).

A importância do estado fisiológico parece se apresentar como uma variável bastante importante, e ainda mais quando é somado a um tratamento clínico específico, conforme observamos em um estudo com 115 mulheres saudáveis na pós-menopausa, com idade entre 50 e 75 anos de idade, que realizaram 45 minutos de treinamento aeróbio combinado com exercícios resistidos por 12 meses. Como resultado não houve diferenças significativas na NKCA nem na contagem das células NK¹⁹ (A). Entretanto, em mulheres na pós-menopausa e depois de concluída a terapia para tratamento do câncer de mama, 15 minutos de exercício aeróbio entre 70 e 75% do pico do consumo de oxigênio, parece ser suficiente para aumentar a NKCA no grupo que realizou o exercício, após 15 semanas de intervenção²⁰ (A).

Um estudo pesquisou 29 atletas cadeirantes de meia maratona, comparando os efeitos da corrida sobre a contagem

e a função células NK, além de outros parâmetros hematológicos e hormonais em 6 indivíduos com lesão na cervical e 7 com lesão medular entre a quarta vértebra torácica (T4) e a primeira vértebra da lombar (L1), antes, imediatamente após e 2 horas após o exercício. A contagem de células NK aumentou depois da corrida no grupo com lesão entre T4 e L1 em comparação com antes da corrida. A NKCA aumentou imediatamente em ambos os grupos após a corrida, e depois voltou para o nível pré-corrida duas horas após a corrida. Esta pesquisa demonstra que a corrida aumenta NKCA apesar da ausência de aumento da adrenalina no plasma em indivíduos com lesão na cervical²¹ (B).

O treinamento de 6 semanas em atletas de caiaque mostra que existe efeito de adaptação crônica ao treinamento das NK comparado ao grupo controle²² (B), sendo conflitantes.

Nos estudos analisados observa-se variedade na resposta quantitativa e qualitativa das células NK, de acordo com as características do estímulo físico. Contudo, algumas particularidades referentes a alguns grupos reforçam a hipótese que as particularidades fisiológicas, o estado de saúde e o tratamento clínico também podem influenciar as células NK. Nesse sentido, torna-se necessário o desenvolvimento de protocolos com grupos específicos e um rígido controle de variáveis intervenientes para, também, analisar a influência desses fatores somados ao estímulo físico na resposta das células NK. A Tabela 1 mostra os resultados dos estudos e o efeito do exercício físico sobre as células natural killer.

Tabela 1 - Resumo dos artigos investigando exercício físico e células natural killer

| Estudo | Amostra | | | | Protocolo | | Efeito |
|-----------------------------------|---------|------------|-------------|--|------------------------|--|--|
| | n | Idade | Sexo | Características | Tempo | Atividade | |
| Natale et al. ⁹ (A) | 8 | 24±2,4 | M | - Saudáveis - Preparo físico moderado | 1 sessão de cada grupo | - 5 minutos de bicicleta a 90% do VO_{2max} - 2 horas em bicicleta a 60% do VO_{2max} - Circuito de exercício de força - 5 horas sentado. | ↑ células NK = aos valores basais 3 horas após o exercício. |
| DuBose et al. ¹⁰ (B) | 17 | 18–19 anos | 4 F 13 M | - Fuzileiros Navais | 1 sessão | - Grupo E, correu 1,75–2 milhas - Grupo EHI, estava com doença pelo calor | |
| McFarlin et al. ¹¹ (B) | 13 | 20,38±1,61 | M | - Homens | 1 sessão | - 1 hora de cicloergômetro, um grupo com CHO e outro com água | ↑ NK pós-exercício ↓ NK 2 horas pós-exercício nos 2 grupos. ↑ NKCA pós-exercício e ↓ NKCA 2 e 4 horas pós-exercício nos 2 grupos. ↑ NKCA responsiva a IL-2 no pós-exercício e 4 horas pós-exercício no grupo com CHO. |
| Suzui et al. ¹² (B) | 15 | 15 | F | - 8 treinadas - 7 destreinadas - Saudáveis | 1 mês | - Treinamento de 5 horas de duração 6 dias por semana - Controle: nada | ↑ células NK CD56 (bright) durante e no fim do treinamento ↓ NKCA no fim do treinamento = NKCA pós-treinamento. |

Continua...

Tabela 1 - Continuação

| Estudo | Amostra | | | | Protocolo | | Efeito |
|---|---------|------------|--------------|--|------------|---|---|
| | n | Idade | Sexo | Características | Tempo | Atividade | |
| Scharhag et al. ¹³ (B) | 12 | 26 (7) | M | - 9 ciclistas - 3 triatletas | 1 dia | - Duração: 4 horas - Intensidade: 70% do limiar anaeróbico | ↑ células NK ↓ abaixo do basal 1 e 2 horas pós-exercício. = NKCA |
| Nemet, Mills e Cooper ¹⁴ (B) | 11 | 16,5 (0,5) | M | - Adolescentes | 1 sessão | - uma sessão de 1,5 horas de treinamento de luta imitando um dia normal de treinamento | ↑ o número de todas as células brancas circulantes do sangue, incluindo as células NK |
| Timmons, Tarnopolsky e Bar-Or ¹⁵ (B) | 22 | 14 anos | 11 M 11 F | - Saudáveis | 1 dia | - 2 x 30 min (intervalo de 5-7 min) no cicloergômetro a 70% do VO_{2max} - 1 grupo com suplementação de CHO e outro com placebo | = subconjuntos das células NK com o exercício mas sem a interferência do CHO. |
| Zhang et al. ¹⁶ (B) | 6 | 22,5±0,6 | M | - Saudáveis | 1 dia | - Exercício na esteira até a exaustão | ↑ de células NK ↓ abaixo dos níveis basais 1h após o exercício. |
| Horn et al. ¹⁷ (B) | 18 | 33,4±6,8 | M | - Bem treinados | 6 semanas | - 50 min de exercício aeróbico a 35°C e URA de 40% - 70% VO_{2max} | ↑ 83% de células NK imediatamente após o exercício ↓ 66% após 1,5h. |
| Shing et al. ¹⁸ (B) | 15 | 27±2 | M | - Ciclistas altamente treinados | 6 semanas | - 5 semanas de treinamento regular - 1 semana de treinamento de alta intensidade - Teste: 40 km time Trial no início, S5 e S6 | ↑ de células NK pós Teste 40, não havendo diferença entre as semanas observadas. = NKCA. |
| Fairey et al. ²⁰ (A) | 52 | 50–69 anos | F | - Pós-menopausa - Histórico de câncer de mama | 15 semanas | - Cicloergômetro 3 vezes por semana; - Intensidade: 70–75% do VO_{2pico} - Duração: 15 min aumentando sistematicamente 5 min a cada 3 semanas | ↑ NKCA |

NK: Natural Killer; NKCA: Atividade citotóxica da célula Natural Killer; CD56: Grupamento de diferenciação 56; IL-2: Interleucina 2; CHO: Carboidrato; URA: Umidade Relativa do Ar.

Conclusão

A intensidade e a duração do exercício físico, em uma ampla margem, podem influenciar quantitativa e qualitativamente as células natural killer. Nessa resposta, normalmente, ocorre elevação na contagem e função das células circulantes imediatamente com o término do estímulo físico e, posteriormente, observa-se uma queda na contagem, sendo, muitas

vezes, abaixo dos níveis basais e, por conseguinte, retornado em no máximo 24 horas.

Pode-se observar que na literatura não há um consenso sobre a influência do exercício a respeito da contagem e da função das células natural killer. Tal divergência pode ser explicada pelos diferentes protocolos de exercícios físicos utilizados, ou seja, as características do estímulo físico ofertado permeiam as respostas das células natural killer.

Leituras suplementares

1. Abbas AK, Lichtman AH. *Imunologia Celular e Molecular*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005. 580 p.
2. Gunzer W, Konrad M, Pail E. Exercise-Induced Immunodepression in Endurance Athletes and Nutritional Intervention with Carbohydrate, Protein and Fat—What Is Possible, What Is Not? *Nutrients*. 2012;4(9):1187-212.
3. Abbas AK, Lichtman AH. *Imunologia Básica: Funções e Distúrbios do Sistema Imunológico*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2007.
4. Eichner ER. Contagious infections in competitive sports. *Sports Science Exchange* 1995;3:1-4.
5. Terra R, Silva SAG, Pinto VS, Dutra PML. Efeito do exercício no sistema imune: resposta, adaptação e sinalização celular. *Rev Bras Med Esporte*. 2012;18(3):208-14.
6. Radom-Aizik S, Zaldivar FP, Haddad F, Cooper DM. Impact of brief exercise on peripheral blood nk cell gene and microrna expression in young adults. *J Appl Physiol*. 2013;114(5):628-36.
7. Goh J, Kirk EA, Lee SX, Ladiges WC. Exercise, physical activity and breast cancer: the role of tumor-associated macrophages. *Exerc Immunol Rev*. 2012;18:158-76.
8. Walsh NP, Gleeson M, Shephard RJ, Gleeson M, Woods JA, Bishop NC, et al. Position statement. Part one: Immune function and exercise. *Exerc Immunol Rev*. 2011;17:6-63.
9. Natale VL, Brenner IK, Moldoveanu AI, Vasiliou P, Sheck P, Shephard RJ. Effects of three different types of exercise on blood leukocyte count during and following exercise. *São Paulo Med J*. 2003;121(1):9-14.
10. DuBose DA, Wenger CB, Flinn SD, Judy TA, Dubovtsev AI, Morehouse DH. Distribution and mitogen response of peripheral blood lymphocytes after exertional heat injury. *J Appl Physiol*. 2003;95(6):2381-9.
11. McFarlin BK, Flynn MG, Stewart LK, Timmerman KL. Carbohydrate intake during endurance exercise increases natural killer cell responsive to IL-2. *J Appl Physiol*. 2004;96(1):271-5.
12. Suzui M, Kawai T, Kimura H, Takeda K, Yagita H, Okumura K, et al. Natural Killer cell lytic activity and CD56 dim and CD56 bright cell distributions during and after intensive training. *J Appl Physiol*. 2004;96(6):2167-73.
13. Scharhag J, Meyer T, Gabriel HHW, Schlick B, Faude O, Kindermann W. Does prolonged cycling of moderate intensity affect immune cell function? *Br J Sports Med*. 2005;39(3):171-7.
14. Nemet D, Mills PJ, Cooper DM. Effects of intense wrestling exercise on leucocytes and adhesion molecules in adolescent boys. *Br J Sports Med*. 2004;38(2):154-8.
15. Timmons BW, Tarnopolsky MA, Bar-Or O. Sex-based effects on the distribution of NK cells subsets in response to exercise and carbohydrate intake in adolescents. *J Appl Physiol*. 2006;100(5):1513-9.
16. Zhang X, Matsuo K, Farmawati A, Higashi Y, Ogawa K, Nagata K, et al. Exhaustive exercise induces differential changes in serum granulysin and circulating number of natural killer cells. *Tohoku J Exp Med*. 2006;210(2):117-24.
17. Horn P, Kalz A, Lim CL, Pyne D, Saunders P, Mackinnon P, et al. Exercise-recruited NK cells display exercises-associated eHSP-70. *Exerc Immunol Rev*. 2007;13:100-11.
18. Shing CM, Ogawa W, Zhang X, Nagatomi R, Peake JM, Suzuk, K, et al. Reduction in resting plasma granulysin as a marker of increased training load. *Exerc Immunol Rev*. 2007;13:89-99.
19. Campbell PT, Wener MH, Sorensen B, Wood B, Chen-Levy Z, Potte, JD, et al. Effect of exercise on in vitro immune function: a 12-month randomized, controlled trial among postmenopausal women. *J Appl Physiol*. 2008;104(6):1648-55.
20. Fairey MS, Courneya KS, Field CJ, Bel, GJ, Jones LW, Mackey JR. Randomized controlled trial of exercises and blood immune function on postmenopausal breast cancer survivors. *J Appl Physiol*. 2005;98(4):1534-40.
21. Banno M, Nakamura T, Furusawa K, Ogawa T, Sasaki Y, Kouda K, et al. Wheelchair half-marathon race increases natural killer cell activity in persons with cervical spinal cord injury. *Spinal Cord*. 2012;50(7):533-7.
22. Borges FC, Teixeira AMBM, Rama LMLP, Pedreiro S, Santos AMC, Massart AGM, et al. Diferenças em populações de células exterminadoras naturais (natural killers-nk) sanguíneas periféricas entre atletas de caiaque e não atletas. *Rev Bras Med Esporte*. 2012;18(5):305-7.