



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL  
CAMPUS DE CHAPECÓ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS  
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

**JOSIANO GUILHERME PUHLE**

**O EFEITO DA AURICULOTERAPIA E DO EXERCÍCIO FÍSICO RESISTIDO  
SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO E NA QUALIDADE DE VIDA DE PACIENTES  
RENAIS CRÔNICOS SUBMETIDOS À HEMODIÁLISE**

**CHAPECÓ-SC  
2022**

**JOSIANO GUILHERME PUHLE**

**O EFEITO DA AURICULOTERAPIA E DO EXERCÍCIO FÍSICO RESISTIDO  
SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO E A QUALIDADE DE VIDA DE PACIENTES  
RENAIS CRÔNICOS SUBMETIDOS À HEMODIÁLISE**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Biomédicas sob a orientação da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Débora Tavares de Resende e Silva.

CHAPECÓ-SC  
2022

## UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

Av. Fernando Machado, 108 E  
Centro, Chapecó, SC - Brasil  
Caixa Postal 181  
CEP 89802-112

### Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Puhle, Josiano Guilherme

O efeito da auriculoterapia e do exercício físico resistido sobre o estresse oxidativo e a qualidade de vida de pacientes renais crônicos submetidos à hemodiálise / Josiano Guilherme Puhle. -- 2022.

73 f.:il.

Orientadora: Doutora em Ciências - Patologia Geral  
Débora Tavares de Resende e Silva

Co-orientadora: Doutora em Ciências Biológicas -  
Genética Sarah Franco Vieira de Oliveira Maciel

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da  
Fronteira Sul, N, N, 2022.

1. Auriculoterapia. 2. Exercício Físico. 3.  
Insuficiência Renal. 4. Estresse Oxidativo. 5. Qualidade  
de Vida. I. , Débora Tavares de Resende e Silva, orient.  
II. Maciel, Sarah Franco Vieira de Oliveira, co-orient.  
III. Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

**JOSIANO GUILHERME PUHLE**

**O EFEITO DA AURICULOTERAPIA E DO EXERCÍCIO FÍSICO RESISTIDO  
SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO E A QUALIDADE DE VIDA DE PACIENTES  
RENAIS CRÔNICOS SUBMETIDOS À HEMODIÁLISE**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS. Para obtenção do título de Mestre em Ciências Biomédicas defendido em banca examinadora em 12/05/2022.

Aprovado em: 12/05/2022

BANCA EXAMINADORA



Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Débora Tavares de Resende e Silva – UFFS  
Presidente da banca/orientadora



Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Renata Calciolari Rossi - UNOESTE  
Membro titular externo



Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Margarete Dulce Bagatini – UFFS  
Membro titular interno



Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Daniela Zanini - UFFS  
Membro suplente

Chapecó/SC, maio de 2022

## RESUMO

O estresse oxidativo e a perda na qualidade de vida são achados comuns em pacientes com doença renal crônica em hemodiálise e estão associados ao desenvolvimento de outros processos patológicos, bem como na progressão da própria. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da auriculoterapia e do exercício físico resistido, associados ou não, como terapias não farmacológicas no perfil oxidativo, no manejo clínico dos exames bioquímicos de rotina e na qualidade de vida de pacientes renais crônicos submetidos ao tratamento hemodialítico. A amostra foi dividida em 4 grupos sendo: Grupo Controle, Grupo Auriculoterapia, Grupo Exercício Físico Resistido, Grupo Auriculoterapia+Exercício Físico Resistido. Foram analisados antes e após as intervenções com o intuito de avaliar o perfil oxidativo os níveis de Tióis Proteicos (PSH), Tióis Não Proteicos (NPSH), atividade da Superóxido Dismutase (SOD), Vitamina C, atividade da Mieloperoxidase (MPO), Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) e Proteína C-reativa. Para avaliar o efeito das intervenções sobre os padrões bioquímicos foram utilizados dados de prontuário referente aos exames mensais de Taxa de Filtração Glomerular (TFG), Albumina, 25-Hidroxitamina D, Cálcio, Creatinina, Glicose, HDL, LDL, Potássio, Sódio, Ureia e Ureia pós sessão. A qualidade de vida foi analisada pelo questionário 36- *Item Short Form Survey* (SF-36). Para as análises estatísticas foram utilizados os testes de normalidade de Shapiro-Wilk e o teste de Dixon para outliers, posteriormente os testes de Willcoxon e Anova de duas vias através do software Statistica® 8.0 (STATSOFT). Referente aos componentes antioxidantes, os níveis da Vitamina C aumentaram ( $p \leq 0,05$ ) após as intervenções de exercício físico resistido e associação entre auriculoterapia e exercício físico resistido. A atividade antioxidante da SOD aumentou ( $p \leq 0,05$ ) com todos os tratamentos propostos. Os níveis de NPSH encontraram-se diminuídos ( $p \leq 0,05$ ) em todos os grupos. Os marcadores de danos oxidativos foram diminuídos ( $p \leq 0,05$ ) nos grupos exercício físico resistido e na associação entre auriculoterapia e exercício físico resistido no que se refere a atividade da MPO. Nos grupos de auriculoterapia e associação entre auriculoterapia e exercício físico houve diminuição ( $p \leq 0,05$ ) nos níveis de TBARS. Alguns componentes bioquímicos foram alterados após os tratamentos, onde o protocolo de auriculoterapia desencadeou a diminuição ( $p \leq 0,05$ ) nos valores de Glicose e Sódio e o aumento ( $p \leq 0,05$ ) nos valores da TFG e Albumina. O protocolo de exercício físico resistido promoveu diminuição ( $p \leq 0,05$ ) nos valores de Albumina e Sódio e aumento ( $p \leq 0,05$ ) na TFG. A associação entre auriculoterapia e exercício físico resistido foi responsável pela diminuição ( $p \leq 0,05$ ) nos valores de Albumina, Sódio e Ureia. Os aspectos da qualidade de vida melhoraram ( $p \leq 0,05$ ) em todos os grupos de intervenção, dando ênfase na associação entre auriculoterapia e exercício físico resistido que teve impacto em todos os componentes. A aplicação dos tratamentos de auriculoterapia e exercício físico resistido em pacientes em hemodiálise promoveram proteção sobre o estresse oxidativo, alteraram padrões bioquímicos e para mais também serviram como ferramentas para o aumento da percepção de qualidade de vida.

**Palavras-chave:** Auriculoterapia. Exercício Físico. Estresse Oxidativo. Qualidade de Vida. Insuficiência Renal Crônica.

## ABSTRACT

Oxidative stress and loss in quality of life are common findings in patients with chronic kidney disease on haemodialysis and are associated with the development of other pathological processes, as well as in the progression of the disease itself. The objective of the present work was to evaluate the effect of auriculotherapy and resistance exercise, associated or not, as non-pharmacological therapies on the oxidative profile, on the clinical management of routine biochemical tests, and on the quality of life of chronic renal patients undergoing hemodialysis treatment. The sample was divided into 4 groups: Control Group, Auriculotherapy Group, Resistance Exercise Group, Auriculotherapy+Resistance Exercise Group. The levels of Protein Thiols (PSH), Non-Protein Thiols (NPSH), Superoxide Dismutase (SOD) activity, Vitamin C, Myeloperoxidase (MPO) activity, Thiobarbituric Acid Reactive Species (TBARS) and C-reactive protein were analyzed before and after the interventions in order to assess the oxidative profile. To evaluate the effect of the interventions on biochemical patterns, medical record data on monthly GFR, albumin, 25-hydroxyvitamin D, calcium, creatinine, glucose, HDL, LDL, potassium, sodium, urea, and post-session urea tests were used. Quality of life was analyzed by the 36-item Short Form Survey (SF-36). For the statistical analyses the Shapiro-Wilk normality test and the Dixon test for outliers were used, followed by the Willcoxon test and two-way Anova using the Statistica® 8.0 software (STATSOFT). Regarding the antioxidant components, Vitamin C levels increased ( $p \leq 0.05$ ) after the interventions of resistance exercise and association between auriculotherapy and resistance exercise. The antioxidant activity of SOD increased ( $p \leq 0.05$ ) with all the proposed treatments. The levels of NPSH were decreased ( $p \leq 0.05$ ) in all groups. Markers of oxidative damage were decreased ( $p \leq 0.05$ ) in the resistance exercise groups and in the association between auriculotherapy and resistance exercise with regard to MPO activity. In the auriculotherapy and association between auriculotherapy and physical exercise groups there was a decrease ( $p \leq 0.05$ ) in TBARS levels. Some biochemical components were altered after the treatments, where the auriculotherapy protocol triggered the decrease ( $p \leq 0.05$ ) in Glucose and Sodium values and the increase ( $p \leq 0.05$ ) in GFR and Albumin values. The resistance exercise protocol promoted decrease ( $p \leq 0.05$ ) in Albumin and Sodium values and increase ( $p \leq 0.05$ ) in GFR. The association between auriculotherapy and resistance exercise was responsible for the decrease ( $p \leq 0.05$ ) in Albumin, Sodium and Urea values. Quality of life aspects improved ( $p \leq 0.05$ ) in all intervention groups, emphasizing the association between auriculotherapy and resistance exercise that had an impact on all components. The application of auriculotherapy and resistance exercise treatments in hemodialysis patients promoted protection on oxidative stress, changed biochemical patterns and for more also served as tools for increasing perceived quality of life.

**Keywords:** Auriculotherapy. Physical exercise. Oxidative stress. Quality of life. Chronic Kidney Failure.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Ilustração 1 - Procedimento de Hemodiálise.....	19
Ilustração 2 - Estresse Oxidativo.....	22
Ilustração 3 - Mapa Auricular.....	23
Ilustração 4 - Exercício Físico Resistido.....	25
Ilustração 5 - Fluxograma de Execução da Pesquisa.....	30
Ilustração 6 - Fluxograma Grupos de Pacientes .....	31
Ilustração 7 - Registro do protocolo de auriculoterapia com os pacientes em hemodiálise.....	32
Ilustração 8 - Registro do protocolo de exercício físico resistido com os pacientes em hemodiálise.....	33
Ilustração 9 - Registro do protocolo de auriculoterapia+exercício físico resistido com os pacientes em hemodiálise.....	35
Ilustração 10 - Registro do processamento e da análise das amostras biológicas.....	36
Ilustração 11-Registro da aplicação do questionário SF-36 com os pacientes em hemodiálise .....	39
Ilustração 12 - Figura referente aos níveis séricos de PSH antes e após tratamentos.....	42
Ilustração 13 - Figura referente aos níveis séricos de NPSH antes e após tratamentos.....	42
Ilustração 14 - Figura referente aos níveis séricos de Vitamina C antes e após tratamentos....	43
Ilustração 15 - Figura referente a atividade da SOD antes e após tratamentos.....	44
Ilustração 16 - Figura referente a atividade da MPO antes e após tratamentos.....	45
Ilustração 17 - Figura referente aos níveis séricos de TBARS antes e após tratamentos.....	45
Ilustração 18 - Gráfico referente aos níveis séricos de Proteína C-reativa antes e após tratamentos .....	46

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização da amostra.....	40
Tabela 2 - Doenças responsáveis pela insuficiência renal crônica.....	41
Tabela 3 - Exames bioquímicos de rotina durante tratamento hemodialítico antes e após intervenções.....	47
Tabela 4 - Parâmetros de qualidade de vida antes e após intervenções.....	49



## **LISTA DE ABREVIATURAS**

DM - Diabetes *Mellitus*

DRC - Doença Renal Crônica

Grupo AUR - Grupo Auriculoterapia

Grupo AUR+EFR - Grupo Associação entre Auriculoterapia e Exercício Físico Resistido

Grupo EFR - Grupo Exercício Físico Resistido

HAS - Hipertensão Arterial Sistêmica

HDL - Lipoproteínas de Alta Densidade

LDL - Lipoproteínas de Baixa Densidade

MDA - Malondialdeído

MPO - Mieloperoxidase

NPSH - Tióis não Proteicos

PSH - Tióis Proteicos

SOD - Superóxido Dismutase

TFG - Taxa de Filtração Glomerular

TBARS - Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>15</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>17</b>
3.1	OBJETIVO GERAL.....	17
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
<b>4</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>17</b>
4.1	DOENÇA RENAL CRÔNICA.....	17
<b>4.1.1</b>	<b>Hemodiálise.....</b>	<b>19</b>
4.2	AURICULOTERAPIA.....	20
4.3	EXERCÍCIO FÍSICO RESISTIDO.....	23
4.4	ESTRESSE OXIDATIVO.....	25
4.5	QUALIDADE DE VIDA.....	28
<b>5</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>29</b>
5.1	AMOSTRA E POPULAÇÃO.....	29
5.2	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	29
5.3	EXECUÇÃO.....	30
5.4	DELINEAMENTO.....	31
<b>5.4.1</b>	<b>Grupos.....</b>	<b>31</b>
<b>5.4.2</b>	<b>Protocolo de Auriculoterapia.....</b>	<b>32</b>
<b>5.4.3</b>	<b>Protocolo de Exercício Físico Resistido.....</b>	<b>33</b>
<b>5.4.4</b>	<b>Protocolo de Auriculoterapia + Exercício Físico Resistido.....</b>	<b>34</b>
<b>5.4.5</b>	<b>Material Biológico.....</b>	<b>35</b>
<b>5.4.6</b>	<b>Análise do Estresse Oxidativo.....</b>	<b>36</b>
5.4.6.1	Atividade Antioxidante.....	36
5.4.6.2	Marcadores de Danos Oxidativos e Mediadores Inflamatórios.....	37
<b>5.4.7</b>	<b>Análise da Rotina Bioquímica.....</b>	<b>38</b>
<b>5.4.8</b>	<b>Análise da Qualidade de Vida.....</b>	<b>38</b>
5.5	ESTATÍSTICA.....	40
<b>6</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>40</b>
6.1	CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO.....	40
6.2	PARÂMETROS DO ESTRESSE OXIDATIVO.....	41
<b>6.2.1</b>	<b>Antioxidantes.....</b>	<b>41</b>
<b>6.2.2</b>	<b>Marcadores de Danos Oxidativos e Mediadores Inflamatórios.....</b>	<b>44</b>
6.3	PERFIL BIOQUÍMICO.....	47
6.4	QUALIDADE DE VIDA.....	48
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>50</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>53</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>54</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>60</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A doença renal crônica caracteriza-se por uma diminuição lenta e progressiva da capacidade dos rins de filtrar os resíduos metabólicos do sangue, e que em alguns casos pode ocorrer de maneira aguda. Observa-se a ocorrência da doença em período variável, determinado por condições associativas e desencadeantes como hipertensão arterial, diabetes mellitus e glomerulopatias (DRAWZ; RAHMAN, 2015).

Segundo o Ministério da Saúde (2014), em suas Diretrizes Clínicas para o cuidado ao paciente com doença renal crônica no Sistema Único de Saúde, a doença é considerada um grave problema à saúde pública, pois a incidência e a prevalência estão em considerável aumento e o custo do tratamento torna-se elevado, demonstrando necessidade de ações preventivas e de tratamentos auxiliares.

Uma das alternativas mais eficazes para o tratamento de insuficiência renal é hemodiálise, que consiste em uma técnica de filtração do sangue realizada por uma máquina capaz de reter toxinas e outros componentes metabólicos, realizando a função básica dos rins (SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA, 2020). Analisa-se que tanto a condição crônica de saúde quanto a dinâmica de tratamento, são fatores estressores que podem desestruturar a rotina e as expectativas desses pacientes, ocasionando um impacto considerável em sua qualidade de vida, o que acarretará mais dificuldades durante o tratamento (BEZERRA; HORA; GIL, 2018).

Devido à condição patológica da doença renal crônica, assim como também o método da hemodiálise, é encontrado um ambiente favorável para o aumento do estresse oxidativo, onde é possível identificar aumento de radicais livres e diminuição de defesas antioxidantes quando comparado com indivíduos saudáveis. Se o estresse oxidativo não for controlado e se perdurar a longo prazo, os danos biomoleculares causados podem influenciar na progressão da doença renal crônica e dificultar seu tratamento (ZARGARI, SEDIGHI, 2015; PEDRUZZI et al., 2015).

Sendo assim, buscam-se cada vez mais alternativas para o tratamento auxiliar da doença renal crônica, sendo o exercício físico empregado como terapêutica, tendo em vista seus benefícios em outras doenças e condições de saúde, como diabetes e hipertensão (HEIWE, JACOBSON, 2014; AOIKE et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2020). Já referente a utilização do exercício físico resistido na doença renal crônica, é perceptível o aumento na produção de defesas antioxidantes, assim como a capacidade oxidativa dos músculos, além de aumentar a resistência dos órgãos e tecidos contra a ação

deletéria dos radicais livres, sendo uma ferramenta útil para o manejo clínico desses pacientes (SIMIONI et al., 2018; MAGHERINI et al., 2019, THIRUPATHI, PINHO, CHANG, 2020).

Outra alternativa adotada para o manejo de pacientes é a auriculoterapia, mostrando resultados positivos na melhora clínica e no tratamento de sintomas oriundos de diversas doenças e condições de saúde, como em dores crônicas, no tratamento de diabetes, alergias e problemas osteomusculares. Tendo em vista o comprometimento físico e psicológico dos pacientes que se encontram em hemodiálise, a auriculoterapia emprega-se como tratamento auxiliar por meio da percepção de melhora dos pacientes, assim como pela sua modulação imune comprovada (YEH et al., 2014; HOU et al., 2015; ALIMI, CHELLY, 2018; MELO et al., 2019; LU, LI, 2020).

Nesse sentido, a auriculoterapia e o exercício físico resistido mostram-se como ferramentas práticas e eficientes para o tratamento de pacientes com doença renal crônica que se encontram em hemodiálise. Além de possuírem métodos de utilização e avaliação não invasivos, proporcionam aos pacientes melhora na percepção de qualidade de vida e melhora clínica no que se refere aos sintomas adversos que o tratamento hemodialítico proporciona, como distúrbios de pressão arterial, cefaleias, dores musculares, ansiedade e depressão. É notável que a utilização desses tratamentos não farmacológicos também propicia a modulação de parâmetros do estresse oxidativo, o que acarreta na diminuição da progressão da doença renal crônica.

## **2. JUSTIFICATIVA**

Há evidências na literatura de que pacientes em terapia renal substitutiva apresentam comprometimento da força muscular, sarcopenia e disfunções articulares, principalmente após o início do tratamento hemodialítico, desencadeando quadros de dor e de câimbras, que afetam negativamente a sua saúde funcional (JOHANSEN, 2006; PEDRUZZI et al., 2015; ZARGARI, SEDIGHI, 2015). Também existem dados referentes ao aumento considerável de sintomas psicossomáticos relacionados à ansiedade e à depressão, devido às conjunturas da técnica da hemodiálise, o que afeta diretamente sua qualidade de vida (BEZERRA; HORA; GIL, 2018; SANTOS et. al, 2018; JESUS et al., 2019). Ainda sob essas condições, os pacientes acometidos por doença renal crônica em hemodiálise, apresentam um perfil oxidativo alterado, ocasionando danos celulares, oriundos de altas taxas de estresse oxidativo em seu organismo (SAHNI, GUPTA, 2012; SAHNI et al., 2012; PEDRUZZI et al., 2015; ZARGARI, SEDIGHI, 2015).

Existem diversos relatos positivos acerca da prática do exercício físico aeróbico para pacientes em condições crônicas, dos quais destacam-se o diabetes mellitus, a hipertensão e até mesmo na doença renal crônica. Esses relatos estão associados à melhora da composição corporal, ao retardo da progressão das doenças, à diminuição dos sintomas adversos desses processos patológicos e à melhora clínica de uma maneira geral (HEIWE, JACOBSON, 2014; AOIKE et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2020). Já em relação, especificamente, aos efeitos do exercício físico resistido, existem poucas referências na literatura, o que favorece e aumenta o interesse em observar e avaliar seus efeitos nessa condição de saúde.

Sabe-se ainda que o exercício físico, se prescritos de maneira correta, levando em consideração sua intensidade e sua periodicidade, e ainda às condições clínicas dos pacientes, pode ser uma ferramenta valiosa para controle e regulação do estresse oxidativo, no que se refere ao equilíbrio entre antioxidantes e radicais livres no organismo (DÍAZ et al., 2018; SIMIONI et al., 2018; MAGHERINI et al., 2019, THIRUPATHI, PINHO, CHANG, 2020).

Referente a distúrbios físicos, mentais e psíquicos, causados por doenças como hipertensão, diabetes mellitus e patologias relacionadas à dor, existem dados que afirmam efeitos positivos depois da utilização da auriculoterapia sobre o controle e redução do estresse e da ansiedade, além de desencadear efeitos positivos referentes à melhora clínica desses pacientes, porém dados referentes à doença renal crônica ainda são escassos (SILVÉRIO LOPES; SEROISKA, 2013; ALIM, CHELLY, 2018). Fisiologicamente, promove um aumento da atividade de neurônios relacionados com a via inibitória descendente da dor e do sistema límbico, diminuindo o uso de medicamentos e atuando como uma complementação terapêutica, colaborando para efeitos satisfatórios (ASHER et al., 2010; ARTIOLI; TAVARES; BERTOLINI, 2019).

A auriculoterapia também pode estar relacionada ao controle e regulação do estresse oxidativo, no que se refere ao equilíbrio na produção de antioxidantes e radicais livres, todavia existe controvérsia e resultados discrepantes na literatura, seguidos pela falta de material científico composto por metodologias e protocolos delineados adequadamente, o que dificulta a comprovação de sua eficiência clínica (LOAIZA, 2002; ZIJLSTRA, 2003; ASHER et al., 2010; ABDI et al., 2012; YEH et al., 2014; HOU et al., 2015; ALIM, CHELLY, 2018; MELO et al., 2019; LU, LI, 2020). Esses fatores sobre a auriculoterapia foram essenciais para instigar a investigação sobre os efeitos da auriculoterapia sobre o perfil oxidativo dos pacientes em hemodiálise.

Buscou-se relacionar os efeitos da auriculoterapia e do exercício físico resistido, combinados ou não, no que tange a melhoria da qualidade de vida dos pacientes submetidos ao tratamento de

hemodiálise, por meio da modulação dos parâmetros de estresse oxidativo, haja vista que os pacientes acometidos pela doença renal crônica e que se encontram em tratamento hemodialítico, possuem um desequilíbrio entre radicais livres e antioxidantes, o que acarreta uma série de condições e sintomas indesejáveis.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar o efeito da auriculoterapia e do exercício físico resistido, associados ou não, como terapias não farmacológicas no perfil oxidativo, em componentes bioquímicos de rotina e na qualidade de vida de pacientes renais crônicos submetidos ao tratamento hemodialítico.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

-Caracterizar a amostra por meio dos dados de idade, sexo e doença responsável por desencadear a insuficiência renal crônica;

-Determinar a atividade antioxidante da enzima Superóxido Dismutase e os níveis de antioxidantes não enzimáticos, tais como da Vitamina C, Tióis proteicos e não proteicos, antes e após os tratamentos de auriculoterapia e exercício físico resistido;

-Determinar a atividade da enzima Mieloperoxidase, os níveis séricos de TBARS e os níveis séricos da Proteína C-reativa antes e após os tratamentos de auriculoterapia e exercício físico resistido;

-Avaliar os marcadores bioquímicos de rotina dos pacientes em hemodiálise (TFG, Albumina, 25-Hidroxivitamina D, Cálcio, Creatinina, Glicose, HDL, LDL, Potássio, Sódio, Ureia e Ureia pós sessão) antes e após os tratamentos de auriculoterapia e exercício físico resistido;

-Avaliar os parâmetros de qualidade de vida dos pacientes em hemodiálise antes e após os tratamentos de auriculoterapia e exercício físico resistido;

### **4. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

#### **4.1. DOENÇA RENAL CRÔNICA**

A doença renal crônica é caracterizada por uma alteração na função e/ou estrutura renal que perdurou por mais de três meses, e que resultou em problemas de saúde. Para definir os riscos e as consequências da doença renal crônica em cada paciente é preciso, anteriormente, definir o tipo de alteração, bem como sua causa e seu estágio (GESUALDO et al., 2020). Em 2017, a doença renal crônica foi a 12ª maior causa de morte no mundo e a 10ª maior no Brasil, matando 35 mil pessoas no contexto nacional e 1,2 milhão no contexto global (SILVA et al., 2020).

O diagnóstico deve ser feito através da medição da Taxa de Filtração Glomerular (TFG), que deve ser menor que 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> por mais de três meses. Se a TFG for <60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> por menos de 3 meses, a doença renal crônica ainda não é confirmada, pois há a possibilidade de ser outra doença aguda, como Insuficiência Renal Aguda. Quando a doença renal crônica é confirmada, a avaliação da gravidade da doença deve levar em conta a taxa de albuminúria. Se a taxa for menor que 30mg/g de albumina é considerada normal, entre 30 mg/g e 300 mg/g está moderadamente elevada, e maior que 300mg/g está severamente elevada (KDIGO, 2013).

A doença renal crônica pode ser causada por progressão de uma insuficiência aguda ou, mais frequentemente, pela instalação gradual derivada de outros agravos pré-existentes, como diabetes mellitus ou hipertensão arterial (BASTOS; KIRSZTAJN, 2011). Em ambos os casos, o diagnóstico permanece inalterado, assim como o tratamento, a ser realizado através de mudanças no estilo de vida (redução na ingestão de sal e de proteínas, por exemplo), e das Terapias Renais Substitutivas (TRS) (FLEMING, 2011; KDIGO, 2013).

Como consequência da disfunção renal, há de se considerar terapias de intervenção para que se efetuem funções renais básicas, como eliminação de líquidos e eletrólitos em excesso no organismo; para tanto, as medidas adotadas com essa finalidade são chamadas de TRS (FLEMING, 2011). As TRS consideradas são: o transplante renal, a hemodiálise e a diálise. Com exceção do transplante renal, as demais técnicas envolvem a utilização de membranas permeáveis para realização de remoção de líquidos e troca de solutos do paciente (HECHANOVA, 2019).

Para lançar mão de TRS, utilizam-se parâmetros clínicos, em que avaliam se há possibilidade de continuidade da função renal pelo órgão endógeno ou se há necessidade de método substitutivo. Considera-se a TRS nos quadros de insuficiência renal aguda em que se apresentem sinais e sintomas de toxicidade emergencial (BRASIL, 2012; BRASIL, 2014a; BRASIL, 2014b).

Devido à insuficiência renal as funções de filtração, reabsorção e secreção de substâncias na urina e redução na produção de eritropoietina e 1,25-diidroxicolecalciferol são comprometidas resultando em acidose metabólica, anemia, hipocalcemia, hiperfosfatemia, desnutrição entre outros

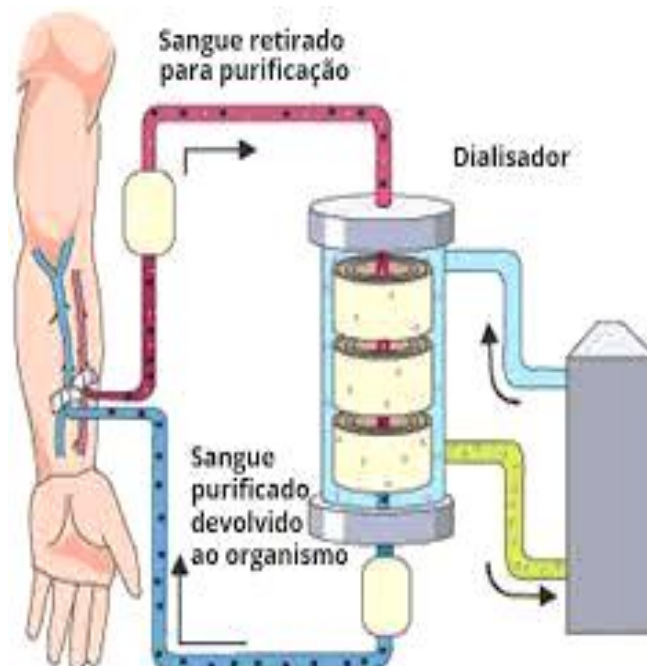
(SBN, 2013). Esse quadro acarreta em alterações bioquímicas e orgânicas significativas, envolvendo distúrbios no metabolismo e demonstrando que a doença renal crônica causa um ambiente altamente pró oxidante e condições de desequilíbrio como estresse oxidativo são muito mais prevalentes nesta doença do que em indivíduos normais (SAHNI, GUPTA, 2012; SAHNI et al., 2012).

#### 4.1.1 Hemodiálise

Por sua vez, a hemodiálise é uma TRS que consiste na limpeza e filtração do sangue através de uma máquina. A hemodiálise realiza a função básica de um rim, eliminando toxinas e substâncias nocivas ao corpo, atuando também no controle da pressão arterial e no controle de elementos como sódio, potássio, creatinina e ureia (SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA, 2020).

Durante a hemodiálise, a máquina recebe o sangue do paciente via acesso vascular e, posteriormente, é bombeado até o filtro de diálise (dialisador). Posteriormente, o sangue é exposto à solução de diálise (dialisato) através de uma membrana semipermeável, filtrando e retirando líquidos e toxinas em excesso, devolvendo o sangue limpo ao paciente através do acesso vascular. (SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA, 2020).

**Ilustração 1** - Procedimento de Hemodiálise



**Fonte:** Adaptado LEAL et al. (2016)



A hemodiálise convencional consiste na remoção de 1 a 4 litros de fluido num período médio de 3 a 4 horas, durante três vezes na semana em um hospital ou clínica especializada. O tempo da hemodiálise varia de acordo com a necessidade de cada paciente, ajustada pelo médico nefrologista, que leva em consideração o estágio da doença e como o paciente reage, de acordo com o seu bem estar (LUGON, 2003).

Pacientes que são submetidos à hemodiálise possuem níveis altos de estresse oxidativo, pois ele é mediador do processo inflamatório característico da doença renal crônica. Nesses pacientes, o estresse e a falta de qualidade de vida têm sido considerados o resultado do aumento da atividade pró oxidante, influenciada por fatores como idade avançada, diabetes, hipertensão, inflamação crônica, síndrome urêmica, bioincompatibilidade das membranas de diálise (ZARGARI, SEDIGHI, 2015).

Outro ponto importante para entender o aumento de estresse oxidativo na hemodiálise é referente à existência de fatores que favorecem a redução da atividade dos sistemas antioxidantes como a ação de vitaminas, de alguns minerais e de compostos antioxidantes provenientes da dieta e dos níveis de atividade física, ambos afetados pela filtração e periodicidade da técnica de hemodiálise (PEDRUZZI et al., 2015).

Devido às conjunturas da técnica de hemodiálise, assim como sua periodicidade e a condição fisiopatológica prévia de cada paciente, a saber: hipertensão, diabetes mellitus, glomerulopatias e doenças autoimunes, é encontrado um ambiente favorável para o aumento da inflamação e do estresse oxidativo, onde é possível identificar aumento de radicais livres e diminuição de defesas antioxidantes quando comparado com indivíduos saudáveis (ZARGARI, SEDIGHI, 2015; PEDRUZZI et al., 2015).

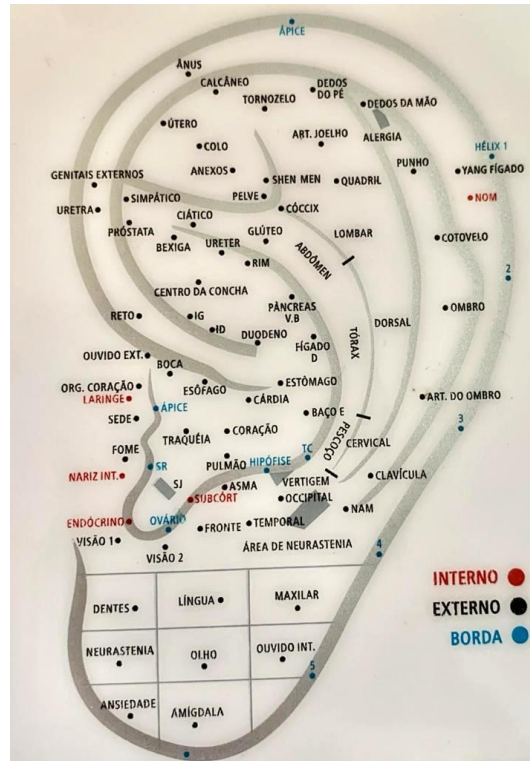
## 4.2 AURICULOTERAPIA

A auriculoterapia, é oriunda da Medicina Tradicional Chinesa (MTC), que busca, por meio da estimulação de pontos específicos, alcançar o equilíbrio e a harmonia corporal, repercutindo em diferentes alterações no sistema nervoso (ALIMI, CHELLY, 2018). O principal sujeito é o Qi (energia ou força de vida), que perpassa por canais que estão interligados com funções específicas de cada corpo. Dessa forma, uma vez que o Qi se encontra desbalanceado, é possível, através da auriculoterapia, estimular alguns pontos e restabelecer o equilíbrio no corpo (RUELA et al., 2018).

Dependendo da doença, dos sintomas e das queixas apresentadas pelo paciente, e também levando em consideração a conduta adotada pelo terapeuta, a estimulação dos pontos no pavilhão auricular pode ocorrer de inúmeras maneiras. As ferramentas mais utilizadas são as sementes

(mostardas, por exemplo), agulhas de acupuntura, agulhas semipermanentes, eletrofototerapia, esferas magnéticas e pelos dedos (SILVÉRIO LOPES; SEROISKA, 2013).

**Ilustração 2 - Mapa Auricular**



**Fonte:** Adaptado SILVÉRIO LOPES; SEROISKA (2013) e Dux Acupuncture (2021)

Em relação à fisiologia, a estimulação do pavilhão auditivo deflagra respostas nervosas que são transmitidas, via nervos periféricos e nervos cranianos, ao sistema nervoso central (SNC), o que resulta na liberação de neurotransmissores envolvidos nos mecanismos de dor. Esse processo faz com que a via neural descendente libere endorfinas no corno posterior da medula espinhal, constituindo-se um obstáculo para a propagação do estímulo doloroso pelo SNC (ARTIOLI; TAVARES; BERTOLINI, 2019).

A auriculoterapia, tem se tornado cada vez mais integrada à medicina ocidental, principalmente no que tange ao tratamento de dores crônicas e distúrbios gastrointestinais, utilizada, sobretudo, visando a melhora na qualidade de vida do paciente. Essa técnica tem sido relatada em diversos contextos, tais como: dor associada ao câncer, artroscopia de joelho (ASHER et al., 2010), dor aguda e crônica (YEH et al., 2014), dor na coluna vertebral, torcicolo, dor reumática, dor fantasma, enxaqueca e cefaleia tensional (ALIMI, CHELLY, 2018).

O estímulo mecânico realizado durante a auriculoterapia possibilita a sinalização nervosa e, conseqüentemente, afeta remotamente a função dos órgãos internos de acordo com os pontos correspondentes que foram estimulados. A depender da estimulação, é possível reduzir os processos inflamatórios em indivíduos que experimentam um evento denominado de tempestade de citocinas, mecanismo no qual é desencadeado uma série de respostas imunológicas de modo que o organismo libere rapidamente um conjunto de proteínas inflamatórias. Para tais efeitos, deve-se levar em consideração o tempo de tratamento, os pontos a serem estimulados e a intensidade da estimulação (HOU et al., 2015).

O processo inflamatório, comumente, está associado a elevação da temperatura, rubor, edema, dor e perda de função. Durante a auriculoterapia, mediadores vasoativos, citocinas e neuropeptídeos podem ser modulados, haja vista que ocorre a regulação e a distribuição de sangue para órgãos e tecidos afetados por processos inflamatórios (ABDI et al., 2012; MELO et al., 2019).

O peptídeo ligado ao gene da calcitonina consiste em um potente vasodilatador, de modo a possuir efeitos fisiológicos e patológicos nos processos inflamatórios. Estudos mostram que técnicas como a acupuntura sistêmica e acupuntura auricular são capazes de regular a liberação de substância P e neuroquinina. Ademais, substâncias anti-inflamatórias como a interleucina (IL) -10 são produzidas mediante tais técnicas (ABDI et al., 2012; MELO et al., 2019).

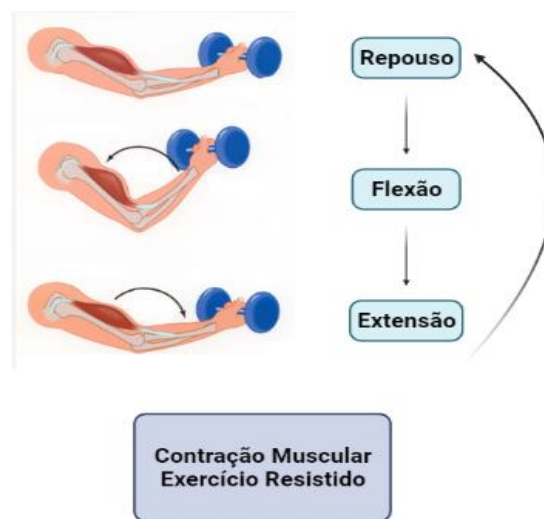
Os níveis de interferon (IFN) gama, IL-2, IL-4 e IL-6 encontraram-se elevados após aplicação de acupuntura auricular, ao passo que marcadores como o fator de necrose tumoral (TNF) alfa apresentou-se reduzido. Sendo assim, verifica-se a existência de um equilíbrio entre citocinas pró-inflamatórias e citocinas anti-inflamatórias (ZIJLSTRA, 2003; LU, LI, 2020). Para mais, estudos em modelos animais submetidos a oclusão arterial, mostraram significativo aumento da concentração de óxido nítrico no sistema circulatório, proporcionando aumento do diâmetro arteriolar após aplicação da tradicional técnica da medicina chinesa (LOAIZA, 2002; ZIJLSTRA, 2003).

Apesar de evidências referente à modulação imune e também sobre a melhora clínica dos sintomas apresentados pelos pacientes em diversas doenças (LOAIZA, 2002; ZIJLSTRA, 2003; ASHER et al., 2010; ABDI et al., 2012; YEH et al., 2014; HOU et al., 2015; ALIM, CHELLY, 2018; MELO et al., 2019; LU, LI, 2020), a auriculoterapia ainda carece de materiais que investiguem a sua relação com o estresse oxidativo, seja por meio da quantificação de radicais livres e/ou antioxidantes, o que instiga pesquisadores da área e é fator que fomenta pesquisas e ensaios clínicos futuros.

#### 4.3 EXERCÍCIO FÍSICO RESISTIDO

O treinamento resistido, também conhecido como treinamento de força ou com pesos, tornou-se uma das formas mais populares de exercício físico para melhorar a aptidão física e o condicionamento. O exercício físico resistido pode ser descrito como um tipo de exercício que exige que a musculatura corporal se movimente contra uma força oposta, geralmente exercida por algum tipo de equipamento, abrangendo uma ampla gama de modalidades de treinamento, incluindo exercícios corporais, com pesos, uso de tiras elásticas, ou pliométricos (JOHANSEN, 2006).

**Ilustração 3** - Exemplo de Exercício Físico Resistido



**Fonte:** Adaptado, RAMALHO et al. (2000)

A adoção de uma vida saudável e a prática regular de exercício físico resistido, proporcionam efeitos agudos como aumento da função endotelial, débito cardíaco, fluxo sanguíneo, diminuição da glicemia e, crônicos como aumento do VO<sub>2</sub>máx, proteção enzimática antioxidante, aumento da sensibilidade à insulina, aumento de massa magra e força (JOHANSEN, 2006).

Outra função do que a prática de exercício físico resistido ocasiona, é a ação de efeitos anti-inflamatórios ocasionados pela contração muscular, por conta da sua atividade mecânica e seu papel no metabolismo energético. Durante a contração muscular imposta pelo exercício, a produção, expressão e a liberação de miocinas e antioxidantes é estimulada e, podem exercer efeitos autócrinos, parácrinos e endócrinos em órgãos que os cercam ou distantes (DÍAZ et al., 2018).

O músculo esquelético contribui para metabolismo de proteínas, glicose corporal, fornecimento de nutrientes e também para a regulação do estresse oxidativo, pela ação das células imunológicas atuando em processos inflamatórios (DÍAZ et al., 2018). O processo que ocorre dentro

dos tecidos, se deve pela diferenciação de monócitos em macrófagos adquirindo fenótipos pró ou anti-inflamatórios, sendo regulado pela interação que ocorre entre as fibras musculares e as células do sistema imune (PILLON et al., 2013). A contração muscular obtida pela prática do exercício físico resistido, gera a produção de antioxidantes no sangue, que pode influenciar no metabolismo em outros tecidos, tendo potencial efeito anti-inflamatório, imunoregulador e metabólico (DÍAZ et al., 2018).

Durante a prática de exercício físico resistido e também durante todos os processos fisiológicos do organismo, são regularmente gerados radicais livres, sendo caracterizados por tanto beneficiar quanto causar prejuízos ao corpo. Em baixas quantidades são fatores importantes para a contração muscular, respostas imunológicas, promoção de apoptose e desintoxicação, porém quando esses radicais livres não conseguem ser eliminados ocorre o processo de acumulação desses compostos, os quais causam o estresse oxidativo, gerando danos a diversas biomoléculas e células, sendo, portanto, ponto chave para a ocorrência de diversas doenças. É nesse âmbito que o exercício físico pode se tornar uma grande ferramenta para reverter e prevenir esses processos (SIMIONI et al., 2018).

A realização do exercício físico resistido constitui um estresse fisiológico, em função do grande aumento da demanda energética em relação ao repouso, o que provoca liberação de calor e intensa modificação do ambiente muscular. Consequentemente, com o treinamento físico, que consiste na exposição regular ao exercício ao longo do tempo, são desencadeadas um conjunto de adaptações que conferem maior capacidade ao organismo para responder ao estresse proporcionado pelo exercício. É importante destacar que os efeitos crônicos do exercício dependem, de adaptações específicas da musculatura esquelética e também de uma adaptação periférica, que envolve tanto um melhor controle e uma distribuição do fluxo sanguíneo (PILLON et al., 2013; THIRUPATHI, PINHO, CHANG, 2020).

No entanto, o exercício físico resistido deve ser praticado corretamente para que ocorram esses benefícios, tudo depende do tipo, duração e intensidade da atividade, haja vista que o próprio exercício físico é capaz de gerar radicais livres como as espécies reativas de oxigênio. Sendo assim, um exercício físico muito longo ou muito intenso pode até contribuir para o estresse oxidativo, criando mais radicais livres. O exercício físico regular pode promover um aumento adaptativo dos mecanismos de defesa do músculo esquelético capaz de proteger contra as lesões produzidas pelas espécies reativas de oxigênio (THIRUPATHI, PINHO, CHANG, 2020).

Quando o exercício é de intensidade moderada, ele se relaciona a uma diminuição do acúmulo de radicais livres devido a uma intensificação da ação de enzimas antioxidantes endógenas, como a

superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, além de defesas antioxidantes que não são enzimáticas, como coenzima Q10, glutathione, ácido úrico, ácido lipoico, bilirrubina, vitamina C e E, etc. Isso ocorre como uma resposta adaptativa ao aumento dos radicais livres produzidos na contratilidade muscular (SIMIONI et al., 2018; MAGHERINI et al., 2019).

Já os exercícios físicos de maior intensidade tendem a diminuir os níveis de estresse oxidativo em casos de treinamento progressivo, a longo prazo e com um tempo adequado de recuperação também pela geração de uma resistência aos níveis elevados de radicais livres durante a contração muscular. No entanto, no momento do exercício de alta intensidade, há um aumento do estresse oxidativo. Se não houver período de recuperação e o exercício se prolongar ao longo dos dias, pode ser gerada uma situação de inflamação crônica, síndrome de *overtraining*, fadiga e altos níveis de estresse oxidativo, pois o corpo não tem tempo para se adaptar aos níveis maiores de radicais livres produzidos (SIMIONI et al., 2018; MAGHERINI et al., 2019).

Devido existir um ambiente altamente pró oxidante, com diversos radicais livres procurando estabilização, que acabam por danificar estruturas no organismo de pacientes em hemodiálise e levando em consideração que a resposta oxidativa ao exercício físico resistido é determinada pelo tipo, frequência, duração e intensidade, acredita-se que o nível de morbidez e mortalidade pode ser diminuído através da redução do estresse oxidativo, como resposta à modulação de antioxidantes e radicais livres, oriundos da terapia adequada de exercício físico resistido (DÍAZ et al., 2018; SIMIONI et al., 2018; MAGHERINI et al., 2019, THIRUPATHI, PINHO, CHANG, 2020).

#### 4.4 ESTRESSE OXIDATIVO

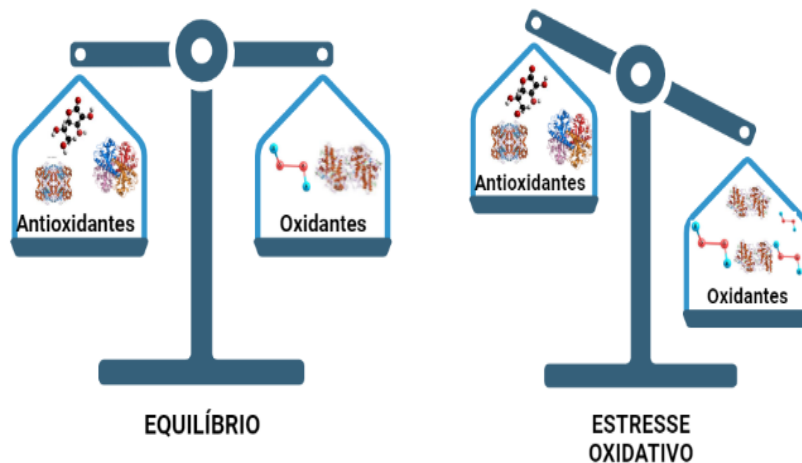
Em 1985, o conceito de estresse oxidativo foi introduzido por Helmut Sies no seu livro “Oxidative Stress”, o qual envolveu pesquisas em biologia e medicina redox (SIES, 2015). Outro marco importante foi a publicação de uma revisão intitulada “Biochemistry of Oxidative Stress” que apresentou um conhecimento considerável no que diz respeito ao desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes e suas fontes endógenas e/ou exógenas (HALLIWELL, 2012).

Todo átomo de algum elemento químico possui uma quantidade específica de elétrons, porém, quando alguma molécula possui um ou mais elétrons desemparelhados em sua última camada eletrônica, denomina-se radical livre. Esse é formado a partir de reações químicas nos organismos e ocorre quando alguma molécula sofre oxidação perdendo elétron para a molécula que sofre redução,

a qual ganha elétrons. Tanto o ganho como a perda de elétrons podem gerar uma situação de desemparelhamento dos elétrons, criando um radical livre (YANG, CHEN, SHI, 2019).

Nos diversos processos bioquímicos que acontecem em nosso organismo, há a formação de espécies reativas, que nada mais são que radicais livres na busca de estabilização. Esse processo faz com que os radicais livres “ataquem” outras moléculas, gerando um acontecimento em cadeia (TAN, NORHAIZAN, LIEW, 2018). Quando os radicais livres se referem ao oxigênio, denominam-se espécies reativas de oxigênio. As principais fontes de espécies reativas de oxigênio incluem a respiração celular e os processos metabólicos, embora as espécies reativas de oxigênio também possam ser geradas por respostas do sistema imunitário, desencadeadas por algum patógeno (BRIEGER et al., 2012).

**Ilustração 4 - Estresse Oxidativo**



Fonte: Autor (2022)

Um organismo encontra-se em estresse oxidativo quando ocorre um desequilíbrio entre os sistemas pró-oxidantes e antioxidantes. No caso da doença renal crônica as alterações na capacidade pró e antioxidante iniciam durante os primeiros estágios da doença e são mais deletérias e aumentadas em pacientes em hemodiálise. A exposição ao estresse oxidativo aumenta o risco de disfunções e morbidades que podem levar ao prejuízo na saúde do indivíduo ao longo de sua vida (ZARGARI, SEDIGHI, 2015; PEDRUZZI et al., 2015).

O aumento na concentração de marcadores de danos oxidativos contribui para o desenvolvimento e atenuação de processos inflamatórios no organismo. Isso ocorre porque o estresse oxidativo e a inflamação são interdependentes, resultando em um ciclo vicioso. Os radicais livres ativam genes pró-inflamatórios, que desencadeiam uma cascata de inflamação progressiva, sendo

descrita pela atenuação de mensageiros para ativação do fator de transcrição nuclear kappa-B que orchestra a expressão de vários genes que perpetuam a resposta inflamatória (SAHNI et al., 2012; SAHNI, GUPTA 2012).

Na doença renal crônica, o estresse oxidativo é evidenciado pelo aumento abundante de subprodutos da interação de espécies reativas de oxigênio com lipídeos, aminoácidos, proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos. Um dos principais mecanismos de lesão é a lipoperoxidação, ou seja, a oxidação da camada lipídica da membrana celular (PEDRUZZI et al.,2015). Além disso, o estresse oxidativo pode acelerar a apoptose de leucócitos em pacientes em hemodiálise, gerar danos às proteínas e ao DNA, provocando diversas alterações na função celular e tecidual (FADAEE et al.,2016).

A progressiva deterioração da função renal leva ao acúmulo de toxinas urêmicas, estimulando o estresse oxidativo, que como consequência contribui para a disfunção endotelial e progressão da aterosclerose (FADAEE et al., 2016). O aumento de dano oxidativo nos músculos esqueléticos na doença renal crônica desempenham um papel importante na patogênese da miopatia urêmica e na sarcopenia de pacientes em hemodiálise, devido à notável diminuição fisiológica da capacidade funcional dos pacientes no que se refere à utilização dos músculos esqueléticos (ZARGARI, SEDIGHI, 2015).

Nesse sentido, levando em consideração as complicações oriundas do estresse oxidativo durante a hemodiálise, o exercício físico é recomendado pois aumenta a produção de defesas antioxidantes, assim como a capacidade oxidativa dos músculos, além de aumentar a resistência dos órgãos e tecidos contra a ação deletéria dos radicais livres. O exercício físico moderado, realizado regularmente e prescrito corretamente vem sendo adotado como terapia não farmacológica em diversas doenças, inclusive na doença renal crônica. (DÍAZ et al., 2018; SIMIONI et al., 2018; MAGHERINI et al., 2019, THIRUPATHI, PINHO, CHANG, 2020).

#### 4.5 QUALIDADE DE VIDA

A hemodiálise configura-se como um método eficaz e importante, no que tange a manutenção da vida dos pacientes que se encontram nessa condição, entretanto, por vezes essa modalidade de tratamento caracteriza-se também pelo seu potencial debilitante, pois afeta e interfere em diversos segmentos do indivíduo submetido a essa prática (SANTOS et. al, 2018). Sendo assim, analisa-se que tanto a condição crônica de saúde quanto a dinâmica de tratamento desses pacientes, são fatores



estressores que podem desestruturar a rotina e as expectativas desses pacientes, causando muitas vezes problemas sociais como isolamento, desemprego, abandono de atividades de lazer e exercícios físicos. (BEZERRA; HORA; GIL, 2018).

Os pacientes submetidos ao tratamento hemodialítico estão sujeitos a algumas complicações e/ou intercorrências durante e até mesmo após a sessão de hemodiálise, e essas podem ser graves, se não houver percepção e interrupção do acontecimento ou de natureza mais simples e menos complexa. Dentre os principais acometimentos estão a hipotensão, a cefaleia e as câibras (NOLÊTO et al., 2017).

Os episódios de câibras ocorrem geralmente antes do quadro de hipotensão arterial. Sua fisiopatologia ainda não muito esclarecida, acaba sendo relacionada com os baixos níveis de carnitina (amina facilitadora do transporte de ácidos graxos para dentro da mitocôndria que é eliminada pela urina) filtrada durante a hemodiálise, que ocorre associada ao desequilíbrio entre ultrafiltração e preenchimento vascular, tendo a hipotensão, o baixo peso seco e o uso de solução dialítica pobre em sódio como fatores predisponentes no acometimento (SANDS et al., 2014).

A fisiopatologia da hipotensão na hemodiálise está relacionada com a taxa de ultrafiltração, a queda de osmolaridade e a redução do volume intravascular, que ocasionam a redução do débito cardíaco e, conseqüentemente interferem na resistência vascular periférica. Os fatores como a ingestão de alimentos, uso abundante de anti-hipertensivos devido a HAS apresentada por alguns pacientes e a perda de sangue ao nível das conexões da máquina, também predisõem ao quadro hipotensivo (SANDS et al., 2014).

Ainda como intercorrência, caracterizada como aquela que surge ou muda de padrão logo no início da terapia, a cefaleia na hemodiálise possui como característica, a pulsação, na região frontal bilateralmente, possuindo intensidade variável, sendo moderada ou forte durante o procedimento, mas também relatada após o mesmo. Eventualmente o quadro pode ser acompanhado de náuseas e vômitos (KUDOH et al., 2013).

Outrossim, a dor também é um dos efeitos adversos dessa terapia, sendo ela em diversos locais do corpo, onde de acordo com o estudo transversal analítico de Marques et. al (2016), cerca de 40% dos pacientes em hemodiálise fazem o uso de fármacos para o alívio da dor, ainda, essa mesma pesquisa evidencia que essa condição repercute em limitações físicas que influenciam seu cotidiano.

A qualidade de vida dos pacientes com doença renal crônica submetidos a hemodiálise é significativamente mais baixa em comparação às pessoas que não são acometidas pela doença e/ou aquelas que não realizam nenhum tratamento. Os domínios físico e psicológico são comprometidos e alterados, tendo em vista todas as condições e as intercorrências clínicas adversas apresentadas

pelos pacientes em questão e também como resultado das conjunturas desse tratamento (JESUS et al., 2019).

## **5. METODOLOGIA**

### **5.1 AMOSTRA E POPULAÇÃO**

Este foi um estudo de abordagem quantitativa e consistiu em estudo intervencional, de caráter descritivo e comparativo. Foi composto por pacientes em tratamento hemodialítico há no mínimo 6 meses, de ambos os sexos, provenientes da Clínica Renal Oeste, situada na cidade de Chapecó-SC.

Previamente foi realizado cálculo amostral com poder de 0,95, com até 10 preditores, resultando em 52 pacientes, porém foram recrutados e elegidos 96 pacientes, devido demanda e interesse voluntário pelos tratamentos ofertados durante a pesquisa. Eles foram divididos em quatro grupos homogêneos, dependendo do seu turno de hemodiálise, seguindo todos os critérios de inclusão e exclusão estabelecidos.

### **5.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO**

Fizeram parte do estudo pacientes de ambos os sexos, com idade maior ou igual a 18 anos que estavam em acompanhamento médico devido à diagnóstico de doença renal crônica, sob tratamento hemodialítico há no mínimo 6 meses. Os pacientes que não concordaram em participar da pesquisa, os que vieram a óbito ou desistiram da participação, assim como aqueles que já realizavam exercícios e/ou auriculoterapia fora da pesquisa, foram excluídos. Os pacientes que apresentaram adesão menor que 75% do total de sessões do programa de exercício físico resistido e/ou auriculoterapia também foram excluídos do estudo.

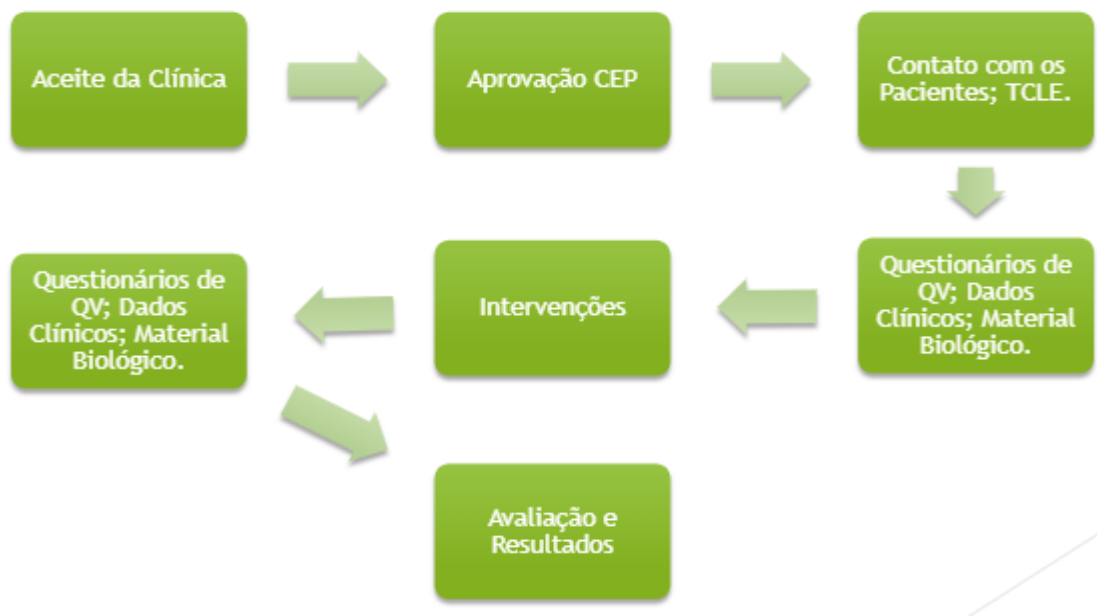
### **5.3 EXECUÇÃO**

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal da Fronteira Sul (CAAE - 42603621.20000.5564). Os pacientes elegíveis foram previamente informados sobre a

pesquisa e utilização do material biológico para realização do estudo, por meio de uma conversa realizada presencialmente com os mesmos na Clínica Renal. Em seguida, o TCLE foi apresentado aos voluntários que aceitaram participar do estudo.

Posteriormente ao consentimento iniciou-se a coleta de dados e aplicação do questionário de qualidade de vida (SF-36). Após coleta de dados e antes das intervenções foi realizada a primeira coleta de material biológico (sangue) ocorrendo antes da sessão de hemodiálise. Na semana posterior ao fim das intervenções foi realizada a segunda coleta de material biológico, também sendo realizada antes da sessão de hemodiálise. As intervenções ocorreram de maneira intradialítica, ou seja, foram realizadas durante o procedimento de hemodiálise, nos três turnos distribuídos e organizados pela Clínica Renal.

**Ilustração 5** - Fluxograma de Execução da Pesquisa



**Fonte:** o autor (2022).

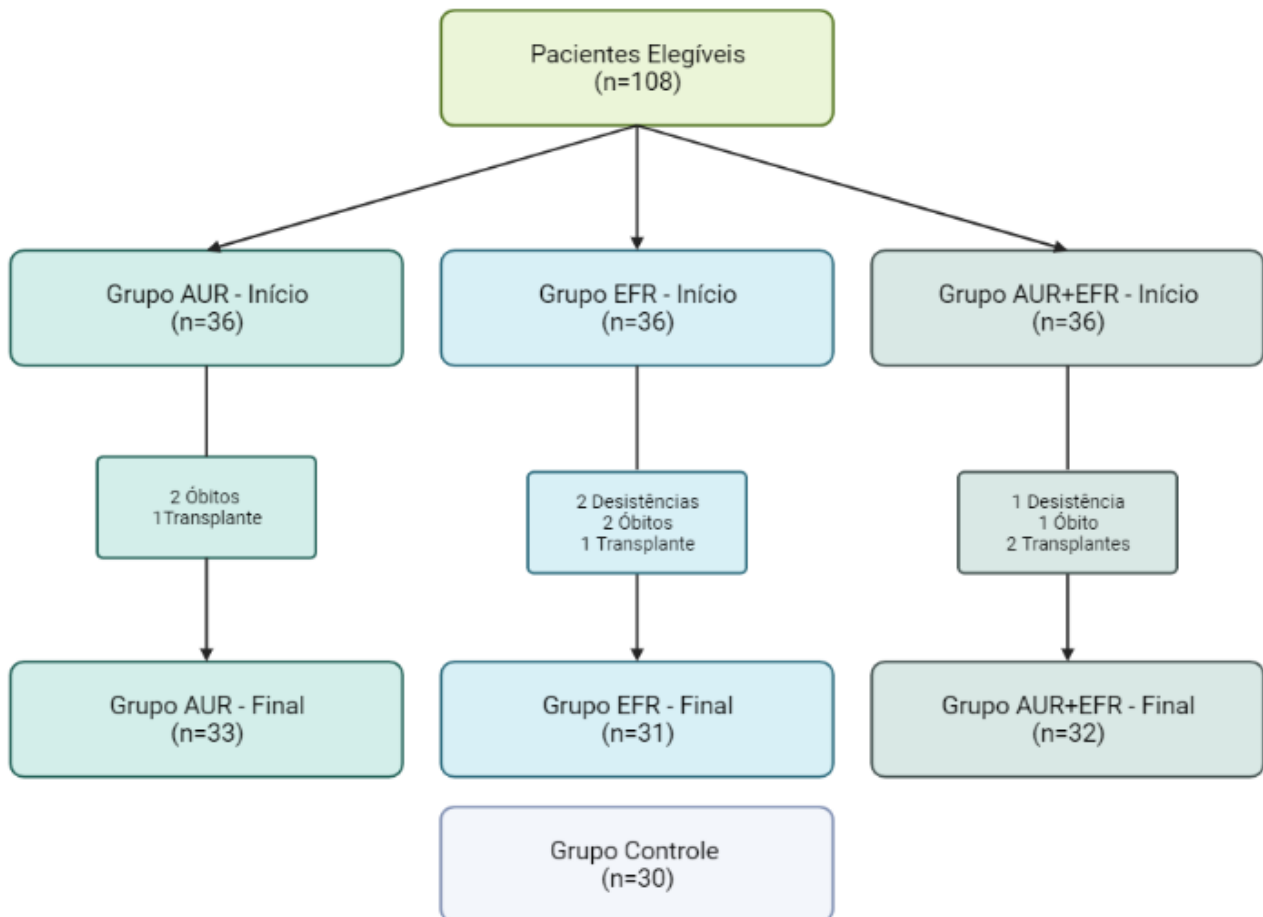
## 5.4 DELINEAMENTO

### 5.4.1 Grupos

Os pacientes recrutados foram distribuídos em 4 grupos, levando em consideração os dias da semana e os turnos que os mesmos realizavam hemodiálise. Os pacientes do primeiro turno (5h30min) fizeram parte do Grupo Exercício Físico Resistido; os pacientes do segundo turno (10h) fizeram parte

do Grupo Auriculoterapia+Exercício Físico Resistido; os pacientes do terceiro turno (14h30min) fizeram parte do Grupo Auriculoterapia; e os pacientes que concordaram em participar da pesquisa porém não realizaram nenhum tipo de intervenção, independentemente do turno de hemodiálise, foram inclusos no Grupo Controle.

**Ilustração 6** - Fluxograma Grupos de Pacientes



Fonte: o autor (2022).

#### 5.4.2 Protocolo de Auriculoterapia

A intervenção foi realizada e supervisionada por um Profissional de Educação Física especialista em Acupuntura e com formação em auriculoterapia, constituída por um protocolo fechado de 12 sessões, sendo realizada uma sessão por semana. O protocolo ocorreu com alternância de orelha, ou seja, quando uma sessão era realizada na orelha esquerda, a próxima sessão foi realizada na orelha direita, conseqüentemente foram realizadas 6 sessões em cada orelha (LOPES; SULIANO, 2020).

A estimulação foi realizada com sementes de mostarda, que permaneciam fixas até a próxima sessão, onde eram retiradas e colocadas novas sementes na outra orelha. O protocolo fechado foi constituído pelos pontos selecionados: Sistema nervoso central - SNC, rins, sistema nervoso autônomo - SNA, hipotálamo, adrenal, subcortex, lumbago, analgesia, ureter, bazo, uretra e relaxamento muscular (LOPES; SULIANO, 2020).

**Ilustração 7** – Registro do protocolo de auriculoterapia com os pacientes em hemodiálise



**Fonte:** o autor (2022).

\*Fotos autorizadas pelos pacientes através do TCLE.

A adesão ao tratamento de auriculoterapia foi atualizada semanalmente em uma planilha monitorada pelos profissionais responsáveis pela aplicação do protocolo. Calculou-se a adesão pelo número de sessões de auriculoterapia realizadas dividida pelo número total de sessões oferecidas, multiplicado por 100.

#### **5.4.3 Protocolo de Exercício Físico Resistido**

O programa de exercício físico resistido foi executado e supervisionado por um Profissional de Educação Física e por uma Fisioterapeuta. As sessões de exercícios foram realizadas em posição sentada e/ou deitada, em uma cadeira padrão de hemodiálise, 3 vezes por semana durante 12 semanas, totalizando 36 sessões. Os exercícios foram realizados com faixas elásticas, halteres e caneleiras com diferentes pesos, onde de acordo com o desempenho e progresso de cada paciente, os exercícios evoluíram no que se refere à intensidade e à carga. Dependendo da localização da fístula arteriovenosa

localizada na fossa cubital e/ou do cateter venoso central localizado na jugular, subclávia e femoral, os exercícios próximos ou referentes aquela região anatômica eram dispensados, somente sendo realizados no lado contrário.

O protocolo de exercício físico resistido utilizado no estudo foi baseado e adaptado à partir do protocolo de Cheema et al. (2007), onde cada sessão teve duração de 30-45 minutos, composta por 10-15 repetições distribuídas em 3 séries de execução de cada um dos seguintes exercícios:

- Extensão do joelho e posterior retorno (flexão) para a posição inicial;
- Flexão do quadril e posterior retorno (extensão) para a posição inicial;
- Abdução do quadril e posterior retorno (adução) para a posição inicial;
- Rotação medial do quadril e posterior retorno (rotação medial) para a posição inicial;
- Flexão do cotovelo e posterior retorno (extensão) para a posição inicial;
- Extensão do cotovelo e posterior retorno (flexão) para a posição inicial;
- Elevação da escápula e posterior retorno (depressão) para a posição inicial;
- Abdução do ombro e posterior retorno (adução) para a posição inicial.

**Ilustração 8** – Registro do protocolo de exercício físico resistido com os pacientes em hemodiálise



**Fonte:** o autor (2022).

\*Fotos autorizadas pelos pacientes através do TCLE.

A adesão ao programa de exercício físico resistido foi atualizada semanalmente em uma planilha monitorada pelos profissionais responsáveis pela aplicação do protocolo. Calculou-se a adesão pelo número de sessões de exercícios realizadas dividida pelo número total de sessões oferecidas, multiplicado por 100.

#### 5.4.4 Protocolo de Auriculoterapia + Exercício Físico Resistido

A intervenção foi realizada e supervisionada por um Profissional de Educação Física especialista em Acupuntura e com formação em auriculoterapia, constituída por um protocolo fechado de 12 sessões, sendo realizada uma sessão por semana. O protocolo ocorreu com alternância de orelha, ou seja, quando uma sessão era realizada na orelha esquerda, a próxima sessão foi realizada na orelha direita, conseqüentemente foram realizadas 6 sessões em cada orelha (LOPES; SULIANO, 2020). A estimulação foi realizada com sementes de mostarda, que permaneciam fixas até a próxima sessão, onde eram retiradas e colocadas novas sementes na outra orelha. O protocolo fechado foi constituído pelos pontos selecionados: Sistema nervoso central - SNC, rins, sistema nervoso autônomo - SNA, hipotálamo, adrenal, subcortex, lumbago, analgesia, ureter, bço, uretra e relaxamento muscular (LOPES; SULIANO, 2020).

Simultaneamente à auriculoterapia, esse grupo foi submetido a 2 sessões por semana de exercício físico resistido durante 12 semanas, totalizando 24 sessões. Os exercícios foram realizados com faixas elásticas, halteres e caneleiras com diferentes pesos, onde de acordo com o desempenho e progresso de cada paciente, os exercícios evoluíram no que se refere à intensidade e à carga. Dependendo da localização da fístula arteriovenosa localizada na fossa cubital e/ou do cateter venoso central localizado na jugular, subclávia e femoral, os exercícios próximos ou referentes aquela região anatômica eram dispensados, somente sendo realizados no lado contrário.

O protocolo de exercício físico resistido utilizado no estudo foi baseado e adaptado a partir do protocolo de Cheema et al. (2007), onde cada sessão teve duração de 30-45 minutos, composta por 10-15 repetições distribuídas em 3 séries de execução de cada um dos seguintes exercícios:

- Extensão do joelho e posterior retorno (flexão) para a posição inicial;
- Flexão do quadril e posterior retorno (extensão) para a posição inicial;
- Abdução do quadril e posterior retorno (adução) para a posição inicial;
- Rotação medial do quadril e posterior retorno (rotação medial) para a posição inicial;
- Flexão do cotovelo e posterior retorno (extensão) para a posição inicial;
- Extensão do cotovelo e posterior retorno (flexão) para a posição inicial;
- Elevação da escápula e posterior retorno (depressão) para a posição inicial;
- Abdução do ombro e posterior retorno (adução) para a posição inicial.

**Ilustração 9** – Registro do protocolo de auriculoterapia+exercício físico resistido com os pacientes em hemodiálise



**Fonte:** o autor (2022).

\*Fotos autorizadas pelos pacientes através do TCLE.

A adesão ao programa de auriculoterapia e exercício físico resistido foi atualizada semanalmente em uma planilha monitorada pelos profissionais responsáveis pela aplicação do protocolo. Calculou-se a adesão pelo número de sessões de exercícios realizadas dividida pelo número total de sessões oferecidas, multiplicado por 100.

#### 5.4.5 Material Biológico

As amostras de sangue dos pacientes foram obtidas antes do procedimento hemodialítico e imediatamente após punção da fistula arteriovenosa em tubos Vacutainer® contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) com anticoagulante (1,0mg/mL), tubos Vacutainer® com gel separador e ativador de coágulo e também em tubos Vacutainer® contendo citrato de sódio a 3,2%.

Após coleta os tubos contendo EDTA e os contendo gel ativador e separador de coágulo foram centrifugados a 3.000RPM por 15 minutos, a 4°C, para a obtenção do plasma e do soro respectivamente. Os tubos de citrato de sódio a 3,2% foram usados para obtenção do sangue total. Posterior a isso todos os produtos (plasma, soro e sangue total) foram distribuídos em tubos eppendorfs® de polipropileno de 1,5mL, identificados e separados em alíquotas para cada análise e conservados a -80°C para posteriores análises.



**Ilustração 10** – Registro do processamento e da análise das amostras biológicas



Fonte: o autor (2022).

Todos os reagentes utilizados nas separações e análises apresentaram grau pureza analítica (P.A.). A água utilizada no preparo das soluções e diluições das amostras foi sempre ultrapura (MilliQ) ou deionizada.

## 5.4.6 Análise do Estresse Oxidativo

### 5.4.6.1 Atividade Antioxidante

Foram avaliados três componentes não enzimáticos para a quantificação e avaliação da defesa antioxidante de cada paciente, antes e após as intervenções.

Vitamina C: os níveis foram estimados como descrito por Galley; Davies; Webster (1996), com pequenas modificações de Jacques-Silva et al (2001). O plasma foi precipitado com 1 volume de ácido tricloroacético (TCA) 10% e o sobrenadante será misturado com dinitrofenilhidrazina

(DNPH) e ácido sulfúrico 65% produzindo um composto de coloração amarelada, detectado em 520 nm. Os resultados foram expressos em ug/dL.

NPSH e PSH: o conteúdo de grupamentos –SH proteicos foi determinado pela reação espontânea dos tióis com ácido 5',5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico) (DTNB). Amostras foram misturadas com uma solução contendo TRIS/HCl (0,5 M), pH 8, e DTNB (0.2 mM) e incubadas por 30 min à temperatura ambiente. A absorbância foi medida à 412 nm e expressa como uM (ELLMAN, 1959)..

A avaliação de defesa antioxidante enzimática antes e depois dos tratamentos, foi realizada através da mensuração da Superóxido Dismutase.

SOD: dentre as defesas enzimáticas responsáveis pela proteção dos sistemas biológicos, encontram-se a Superóxido Dismutase (SOD). Essa enzima catalisa a reação de dois ânions superóxido, com a conseqüente formação de peróxido de hidrogênio, que é menos reativo e pode ser degradado por outras enzimas, como a catalase e a glutathiona peroxidase. (MC CORD, FRIDOVICH, 1969)

#### 5.4.6.2 Marcadores de Danos Oxidativos e Mediadores Inflamatórios

Foram avaliados componentes capazes de gerar radicais livres devido sua capacidade de ativação e/ou degradação de outros componentes bioquímicos e a sua associação à processos inflamatórios, antes e após as intervenções.

MPO: heme enzima produzida por mediadores inflamatórios e liberada a partir de leucócitos, portanto a MPO reflete a ativação de ambos neutrófilos e linfócitos. A MPO catalisa a reação de íons de cloreto com  $H_2O_2$  para gerar grandes quantidades de ácido hipocloroso (HOCl), uma espécie reativa de oxigênio que reage ainda mais para gerar oxigênio singlete e radical hidroxil (SUZUKI et al., 1983). Na presença de  $H_2O_2$  como agente oxidante, a MPO catalisa o acoplamento oxidativo de fenol e AAP originando um produto colorido, a quinoneimina, com uma absorbância máxima de 512nm. Os resultados foram expressos em uM de quinoneimina produzido em 30 min (uMq/30min).

TBARS: a geração de radicais livres e a lipoperoxidação são reações extremamente rápidas, que são, geralmente, mensuradas pelos seus produtos, principalmente as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), entre as quais o malondialdeído é o principal. A formação de MDA, pela quebra de ácidos graxos poli-insaturados é um conveniente método para se determinar o grau de peroxidação lipídica (PATOCKOVA et al., 2003). A técnica de TBARS baseia-se na reação do malondialdeído com o ácido tiobarbitúrico, que resulta em uma coloração rósea, determinada através

de método colorimétrico, em 532 nm. Os resultados foram expressos em nmol de MDA/ml (VACA, WILHEM, HARMS-RINGDAHL, 1988; BABER, HARRIS, 1994).

Proteína C-reativa: é uma proteína sintetizada pelo fígado e trata-se de uma proteína reativa de fase aguda, tendo como indutor principal a interleucina-6 (IL-6), que influencia o processo de transcrição da proteína durante a fase aguda de um processo inflamatório ou infeccioso. A quantificação foi realizada pelo método turbidimétrico, no qual a aglutinação de partículas de látex recobertas com anticorpos antiproteína c-reativa é quantificada pela absorção da luz por tais partículas (SUNG, et al., 2002).

#### **5.4.7 Análise da Rotina Bioquímica**

Segundo normativas e resoluções referentes ao tratamento e ao manejo clínico de pacientes renais crônicos em hemodiálise (BRASIL, 2009; BRASIL, 2012; BRASIL, 2014a; BRASIL, 2014b) mensalmente as clínicas e hospitais responsáveis realizam exames laboratoriais para mensuração e acompanhamento da doença, bem como para adotar os procedimentos terapêuticos adequados para cada paciente.

Foram utilizados dados dos prontuários dos pacientes referente aos resultados dos exames bioquímicos mensais, a saber: Taxa de filtração glomerular (TFG), Albumina, 25-Hidroxivitamina D, Cálcio, Creatinina, Glicose, Lipoproteínas de alta densidade (HDL), Lipoproteínas de baixa densidade (LDL), Potássio, Sódio, Uréia e Uréia Pós Diálise, antes e após as intervenções realizadas na presente pesquisa.

#### **5.4.8 Análise da Qualidade de Vida**

O 36- *Item Short Form Survey* (SF-36) foi aplicado em cada paciente antes e após as intervenções, para a avaliação de qualidade de vida. O SF-36 é um questionário validado e multidimensional composto por 36 itens com duas dimensões: saúde mental e saúde física. Essas dimensões são constituídas por oito componentes: capacidade funcional, aspectos físicos, dor, estado geral de saúde, vitalidade, aspectos sociais, aspectos emocionais e saúde mental. É válido ressaltar que os únicos componentes que fazem parte tanto da dimensão de saúde mental quanto de saúde física, são a vitalidade e o estado geral de saúde.

**Ilustração 11** – Registro da aplicação do questionário SF-36 com os pacientes em hemodiálise



**Fonte:** o autor (2022).

\*Fotos autorizadas pelos pacientes através do TCLE.

O SF-36 é composto por 11 perguntas, subdivididas ou não em itens, com possibilidade para assinalar de 1 a 5 dependendo da identificação do paciente sobre o que é solicitado. Essas alternativas são convertidas e a pontuação final do SF-36 varia de 0 a 100, onde 0 corresponde ao pior e 100 corresponde o melhor estado de qualidade de vida (WARE et al., 1994a, b). O SF-36 é utilizado para avaliar a qualidade de vida em diversas doenças e processos patológicos, incluindo na doença renal crônica, destacando sua validação para avaliar pacientes em hemodiálise (DIAZ-BUXO et al., 2000). O SF-36 foi traduzido e validado para a língua portuguesa em 1999 por Ciconelli et al.

## 5.5 ESTATÍSTICA

As diferenças estatísticas entre os conjuntos de valores dos diferentes tratamentos foram determinadas usando os testes de Willcoxon e Anova de duas vias, além da utilização do teste de Dixon para os *outliers*. O software utilizado para as análises foi o Statistica® 8.0 (STATSOFT). As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas com  $p \leq 0,05$ .

## 6 RESULTADOS

### 6.1 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO

O estudo foi composto por 126 pacientes em programa regular de hemodiálise com idade  $55,90 \pm 15,01$  anos, sendo 63 homens (50%) e 63 mulheres (50%), distribuídos conforme Tabela 1.

**Tabela 1.** Caracterização da amostra.

	Idade	Sexo	
	(n)	Masculino (n)	Feminino (n)
Grupo Controle	$56,15 \pm 12,34$	53,34%	46,66%
	(30)	(16)	(14)
Grupo AUR	$57,39 \pm 14,51$	42,43%	57,57%
	(33)	(14)	(19)
Grupo EFR	$50,90 \pm 16,36$	51,61%	48,39%
	(31)	(16)	(15)
Grupo AUR+EFR	$59,43 \pm 14,16$	53,12%	48,88%
	(32)	(17)	(15)

Dados expressos em média, desvio padrão ( $\pm$ ), número (n) e porcentagem (%)

AUR= auriculoterapia; EFR= Exercício Físico Resistido; AUR+EFR= associação entre auriculoterapia e exercício físico resistido

As principais causas de insuficiência renal foram: Glomerulopatias e outras doenças autoimunes (31,74%, n=40), HAS (19,84%, n=25), DM (16,66%, n=21), associação entre DM e HAS (15,87%, n=20) e causas indeterminadas (15,87%, n=20), distribuídas conforme Tabela 2.

**Tabela 2.** Doenças responsáveis pela insuficiência renal crônica.

	<b>Grupo Controle (n)</b>	<b>Grupo AUR (n)</b>	<b>Grupo EFR (n)</b>	<b>Grupo AUR+EFR (n)</b>
Glom./Autoimunes	23,33% (7)	27,28% (9)	29,05% (9)	25% (8)
Causas Indeterminadas	20% (6)	24,24% (8)	19,35% (6)	21,87% (7)
DM	20% (6)	18,18% (6)	12,90% (4)	15,63% (5)
DM+HAS	16,67% (5)	15,15% (5)	12,90% (4)	18,75% (6)
HAS	20% (6)	15,15% (5)	25,80% (8)	18,75% (6)

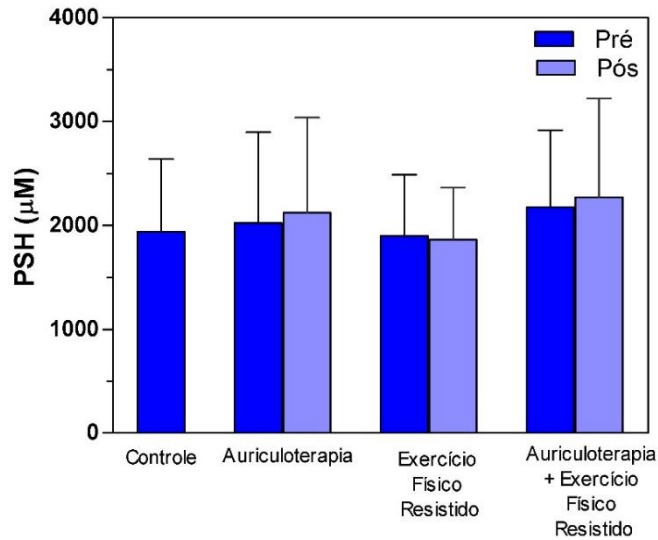
Dados expressos em número (n) e porcentagem (%). AUR= auriculoterapia; EFR= Exercício Físico Resistido; AUR+EFR= associação entre auriculoterapia e exercício físico resistido; DM= diabetes mellitus; HAS= hipertensão arterial sistêmica; DM+HAS= associação entre diabetes mellitus e hipertensão arterial sistêmica; Glom./Autoimunes= glomerulopatias e outras doenças autoimunes.

## 6.2 PARÂMETROS DO ESTRESSE OXIDATIVO

### 6.2.1 Antioxidantes

A determinação e a quantificação dos níveis plasmáticos de PSH antes e após as intervenções, apresenta uma tendência visível na Ilustração 12, não apresentou diferença estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ) em nenhum dos grupos avaliados.

**Ilustração 12.** Gráfico referente aos níveis séricos de PSH antes e após os tratamentos



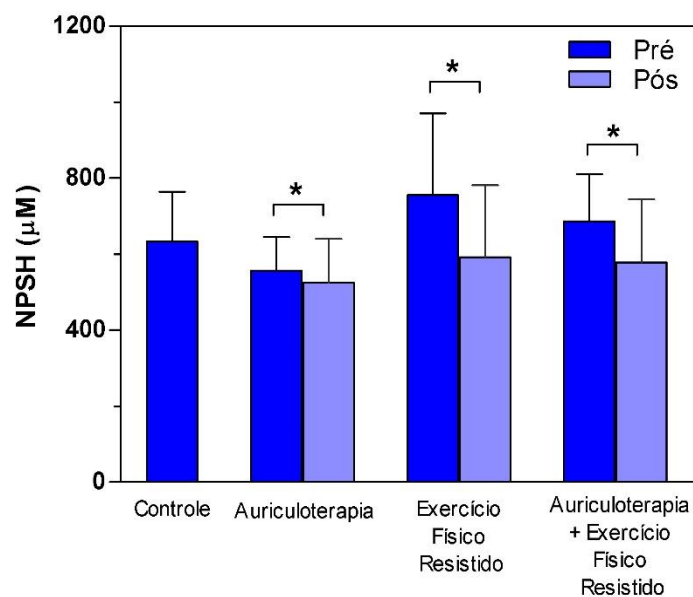
As barras representam o desvio padrão da média;

\*denota diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) antes e após a intervenção de acordo com o Teste de Wilcoxon;

\*\* denota diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os grupos de acordo com o Teste Anova de duas vias.

Os níveis plasmáticos de NPSH evidenciados na Ilustração 13, apresentaram diminuição significativa ( $p \leq 0,05$ ) após todas as intervenções realizadas, concomitantemente não apresentando diferenças estatísticas entre os grupos de tratamento.

**Ilustração 13.** Gráfico referente aos níveis séricos de NPSH antes e após os tratamentos



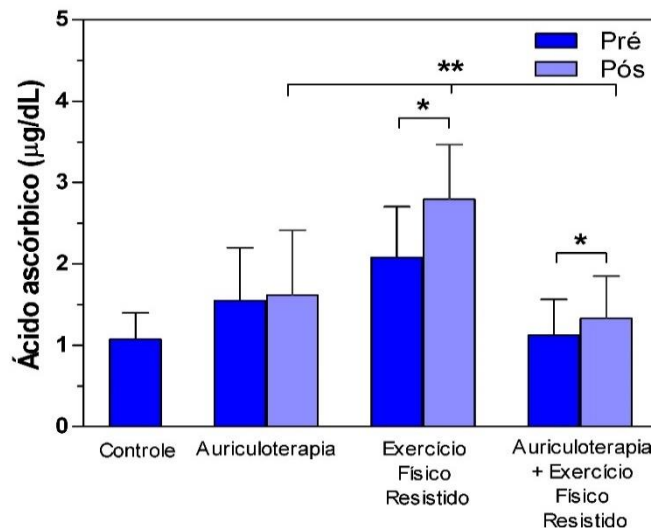
As barras representam o desvio padrão da média;

\*denota diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) antes e após a intervenção de acordo com o Teste de Wilcoxon;

\*\* denota diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os grupos de acordo com o Teste Anova de duas vias.

A concentração de Vitamina C no soro dos pacientes conforme Ilustração 14, evidenciou aumento significativo ( $p \leq 0,05$ ) após o exercício físico resistido e na associação entre auriculoterapia e exercício físico resistido, concomitantemente também foi expressa diferença estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ) na comparação entre os grupos de intervenção.

**Ilustração 14.** Gráfico referente aos níveis séricos de Vitamina C antes e após os tratamentos



As barras representam o desvio padrão da média;

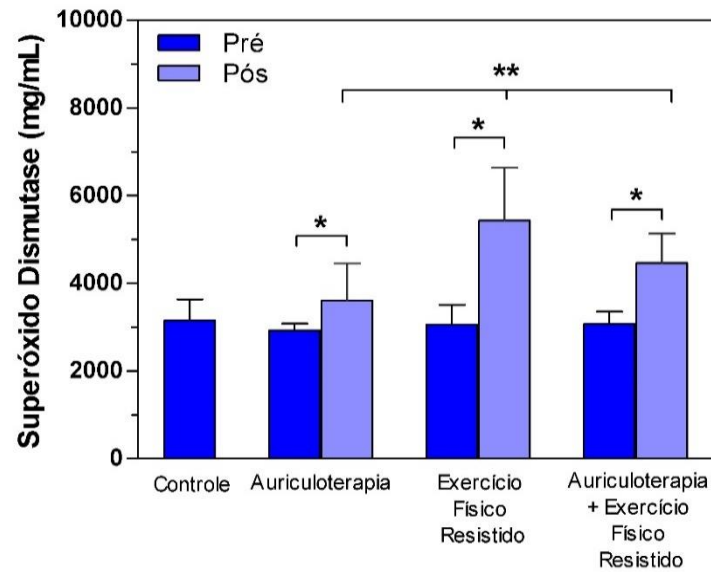
\*denota diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) antes e após a intervenção de acordo com o Teste de Wilcoxon;

\*\* denota diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os grupos de acordo com o Teste Anova de duas vias.

Referente a atividade da enzima SOD no sangue dos pacientes, expressa pela Ilustração 15, todos os grupos apresentaram aumento significativo ( $p \leq 0,05$ ) após suas respectivas intervenções, do mesmo modo que a comparação entre os grupos de tratamento apresentou diferença significativa após as intervenções ( $p \leq 0,05$ ).



**Ilustração 15.** Gráfico referente atividade da SOD antes e após os tratamentos



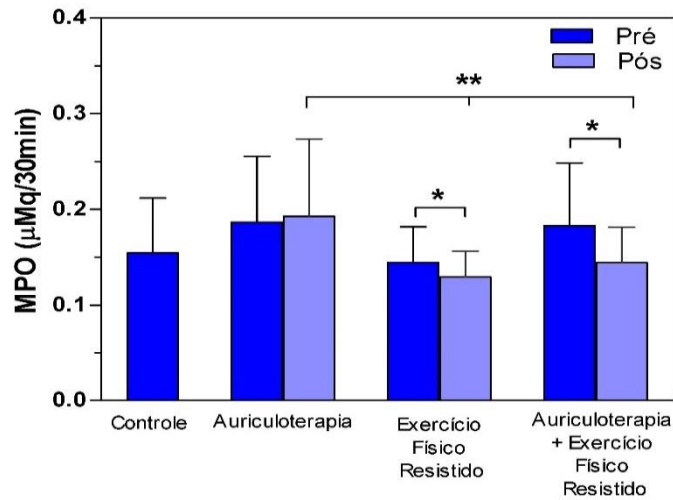
As barras representam o desvio padrão da média;

\*denota diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) antes e após a intervenção de acordo com o Teste de Wilcoxon;

\*\* denota diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os grupos de acordo com o Teste Anova de duas vias.

### 6.2.2 Marcadores de Danos Oxidativos e Mediadores Inflamatórios

A determinação dos níveis plasmáticos de MPO antes e após as intervenções expressa na Ilustração 16, demonstra diminuição na concentração desse componente após os tratamentos, no qual encontram-se diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) nos grupos referente as intervenções de exercício físico resistido e na associação entre auriculoterapia e exercício físico resistido. A comparação entre os grupos também apresentou diferenças estatisticamente significantes ( $p \leq 0,05$ ).

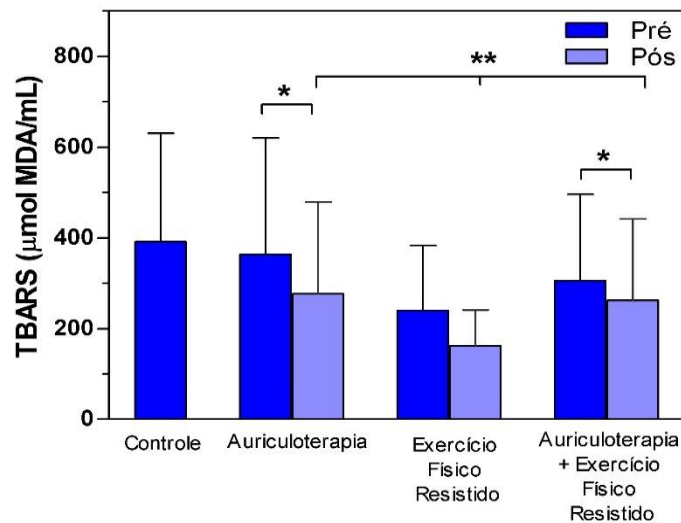
**Ilustração 16.** Gráfico referente atividade da MPO antes e após os tratamentos

As barras representam o desvio padrão da média;

\*denota diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) antes e após a intervenção de acordo com o Teste de Wilcoxon;

\*\* denota diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os grupos de acordo com o Teste Anova de duas vias.

Relativo aos níveis de TBARS expressas pela Ilustração 17, houve um tendência à diminuição nos níveis plasmáticos em todos os grupos de intervenção, porém só foi encontrada diferença estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ) no grupos de auriculoterapia e na associação entre auriculoterapia e exercício físico resistido. Referente aos dados de comparação entre os níveis nos diferentes grupos de intervenção, é possível evidenciar diferença estatisticamente significante ( $p \leq 0,05$ ) em todos os grupos.

**Ilustração 17.** Gráfico referente aos níveis séricos de TBARS antes e após os tratamentos

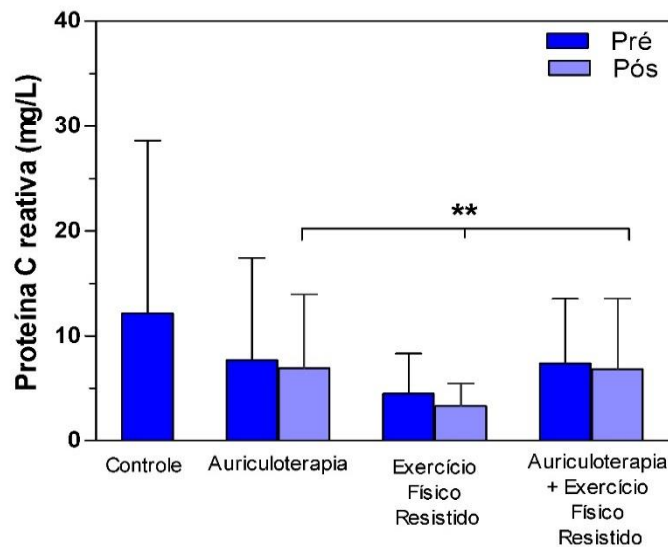
As barras representam o desvio padrão da média;

\*denota diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) antes e após a intervenção de acordo com o Teste de Wilcoxon;

\*\* denota diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os grupos de acordo com o Teste Anova de duas vias.

A determinação e a quantificação dos níveis da Proteína C-reativa como mediadora de processos inflamatórios agudos, antes e após as intervenções, apesar de apresentar um pequeno aumento visível na Ilustração 18, não apresentou diferença estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ) em nenhum dos grupos avaliados, porém a comparação entre os grupos apresenta resultados significativos ( $p \leq 0,05$ ).

**Ilustração 18.** Gráfico referente aos níveis séricos da Proteína C-reativa antes e após os tratamentos



As barras representam o desvio padrão da média;

\*denota diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) antes e após a intervenção de acordo com o Teste de Wilcoxon;

\*\* denota diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os grupos de acordo com o Teste Anova de duas vias.

### 6.3 PERFIL BIOQUÍMICO

Dentre os principais exames laboratoriais utilizados para o diagnóstico e o manejo clínico de pacientes renais crônicos sob tratamento hemodialítico, foi possível observar melhora e resultados positivos em alguns componentes com determinadas intervenções.

**Tabela 3.** Exames bioquímicos de rotina durante tratamento hemodialítico antes e após intervenções.

	Controle	Auriculoterapia			Exercício Físico Resistido			Auriculoterapia + Exercício Físico Resistido		
		Pré	Pós	<i>p</i>	Pré	Pós	<i>p</i>	Pré	Pós	<i>p</i>
TFG	5,47	5,79	7,52	0,017*	5,75	7,73	0,027*	5,51	5,90	0,122
Albumina	3,79	3,87	4,28	0,001*	3,83	3,72	0,027*	4,09	3,65	<0,001*
25-Hidroxivitamina D	29,11	27,17	26,68	0,893	35,18	32,78	0,845	31,01	32,46	0,829
Cálcio	8,43	8,47	8,59	0,918	8,54	8,59	0,501	8,51	8,98	0,006*
Creatinina	9,80	9,37	8,88	0,844	9,26	7,71	0,205	9,48	9,10	0,328
Glicose	122,36	154,36	115,82	0,047*	122,93	119,30	0,950	136,07	127,35	0,882
HDL	38,03	38,31	39,87	0,169	35,47	38,54	0,081	40,17	34,58	0,118
LDL	76,36	76,15	88,60	0,094	89,34	80,46	0,618	93,06	85,59	0,576
Potássio	5,23	5,77	5,58	0,213	5,24	5,35	0,312	5,43	5,22	0,346
Sódio	138,36	135,97	134,94	0,004*	137,55	134,83	<0,001*	137,30	134,23	<0,001*
Ureia	146,15	146,06	149,30	0,736	156,07	154,53	0,765	162,04	145,42	0,049*
Ureia Pós	58,19	58,22	57,03	0,568	62,31	61,10	0,417	65,07	57,27	0,101

Dados expressos em média; \*denota diferença significativa antes e após a intervenção de acordo com o Teste de Wilcoxon

Posterior ao protocolo de 12 semanas do tratamento de auriculoterapia, foi possível constatar estatisticamente a diminuição e a melhora nos níveis da Glicose ( $p=0,047$ ) e nos níveis de Sódio ( $p=0,004$ ). Juntamente à essa situação, é constatado aumento significativo nos resultados referente aos níveis de Albumina ( $p=0,001$ ) e aos níveis da TFG ( $p=0,017$ ).

A intervenção baseada no protocolo de 36 sessões de exercício físico resistido durante 12 semanas, proporcionou aumento significativo nos níveis da TFG ( $p=0,027$ ), concomitantemente foi responsável por provocar a diminuição nas taxas de Albumina ( $p=0,027$ ) e de Sódio ( $p<0,001$ ) nos respectivos pacientes.

O tratamento associativo de 12 sessões de auriculoterapia com 24 sessões de exercício físico resistido durante 12 semanas, afetou os níveis de cálcio ( $p=0,006$ ) fazendo com que os mesmos aumentassem, contudo também promoveu a diminuição dos níveis de Albumina ( $p<0,001$ ), Sódio ( $p<0,001$ ) e Ureia ( $p=0,049$ ).

Os demais marcadores bioquímicos dos pacientes em hemodiálise, a saber: 25-Hidroxivitamina D, Creatinina, HDL, LDL, Potássio e Ureia Pós, não apresentaram nenhuma diferença estatisticamente significativa posteriormente aos tratamentos não farmacológicos realizados.

#### 6.4 QUALIDADE DE VIDA

Das oito dimensões avaliadas pelo questionário de qualidade de vida SF-36, foi possível observar melhora e resultados positivos em todos os grupos, porém somente em alguns componentes existiu diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

**Tabela 4.** Parâmetros de qualidade de vida antes e após intervenções.

	Controle	Auriculoterapia			Exercício Físico Resistido			Auriculoterapia + Exercício Físico Resistido		
		Pré	Pós	<i>p</i>	Pré	Pós	<i>p</i>	Pré	Pós	<i>p</i>
Capacidade Funcional	55,50	37,50	57,21	0,012*	55,50	63,83	0,258	50,71	69,64	0,033*
Aspectos Físicos	15,83	19,12	47,06	0,003*	10,83	65,83	<0,001*	16,96	57,14	<0,001*
Dor	54,87	52,26	69,94	0,012*	64,27	56,43	0,277	41,25	75,61	<0,001*
Estado Geral de Saúde	43,27	51,32	60,15	0,099	48,90	55,63	0,108	48,57	61,32	0,009*
Vitalidade	50,33	58,09	72,35	0,026*	56,67	63,50	0,065	55,89	78,39	<0,001*
Aspectos Sociais	66,67	78,31	78,31	0,951	74,58	82,13	0,122	73,66	90,63	0,029*
Aspectos Emocionais	24,44	35,29	70,59	0,003*	14,44	66,67	<0,001*	25,00	77,38	<0,001*
Saúde Mental	37,71	57,41	72,12	0,049*	56,13	72,40	<0,001*	49,86	73,57	<0,001*

SF-36 *Short Form Survey* 36; Dados expressos em média; \*denota diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) antes e após a intervenção de acordo com o Teste de Wilcoxon.

Após o tratamento, o grupo auriculoterapia apresenta melhoras significativas ( $p \leq 0,05$ ) nos componentes da qualidade de vida referente a Capacidade Funcional, Aspectos Físicos, Dor, Vitalidade, Aspectos Emocionais e Saúde Mental. No que se refere a intervenção de exercício físico resistido, exprime-se resultados significantes ( $p \leq 0,05$ ) nos componentes relacionados aos Aspectos Físicos, Aspectos Emocionais e Saúde Mental.

No que corresponde à intervenção baseada na associação ente auriculoterapia e exercício físico resistido, denota-se resultados significativos ( $p \leq 0,05$ ) em todos os componentes da qualidade de vida, a saber: Capacidade Funcional, Aspectos Físicos, Dor, Estado Geral de Saúde, Vitalidade, Aspectos Sociais, Aspectos Emocionais e Saúde Mental.

## 7 DISCUSSÃO

Devido às condições clínicas e patológicas prévias correspondentes às doenças que desencadearam o quadro de insuficiência renal crônica é possível identificar um ambiente altamente influenciado pelo desbalanço entre radicais livres e antioxidantes, levando ao quadro de estresse oxidativo (ZARGARI, SEDIGHI, 2015; PEDRUZZI et al., 2015).

Referindo-se a determinação da atividade antioxidante pós-intervenção, os níveis de PSH não tiveram alterações significativas em nenhum grupo no presente estudo, o que também foi constatado por Bratti (2011) em seu estudo envolvendo o efeito de um protocolo de natação em camundongos com isquemia. Como justificativa para tal, é preciso analisar de que forma a doença renal crônica afeta a função mitocondrial e o efeito do exercício físico e da auriculoterapia sobre ela, tendo em vista a relação estreita entre PSH e mitocôndria.

Os achados referente à diminuição nos níveis dos NPSH após intervenções, são justificáveis de acordo com os achados de Tromm e autores (2018) e Bratti (2011), nos quais é evidenciado que os protocolos ocasionaram uma ativação das enzimas Glutathione reduzida e Glutathione oxidada devido utilização dos grupamento -SH no seu ciclo de regeneração.

Outro componente extremamente importante devido sua capacidade antioxidante é a Vitamina C, que após a intervenção de exercício físico resistido e na associação entre auriculoterapia e exercício físico resistido constatou-se aumento significativo em sua concentração. Indo ao encontro com o Quadros e Barros (2016) evidenciam, na qual a Vitamina C é um antioxidante não enzimático exógeno e conseqüentemente ao fato de que os pacientes não realizam suplementação alimentar, esse aumento pode estar relacionado à diminuição nos níveis de espécies reativas e radicais livres, que também são expressas no presente estudo, tendo em vista a degradação da Vitamina C para suprir as demandas de doação de elétrons em quadros de estresse oxidativo.

A defesa enzimática antioxidante representada nesse estudo pela atividade da SOD apresentou aumentos significativos em todos os grupos de intervenção, sendo pelas técnicas isoladas de auriculoterapia e exercício físico resistido, ou em conjunto. Esses achados enfatizam o que Franz (2016) relata após protocolo de acupuntura manual em camundongos induzidos à convulsões e também com os achados de Tromm e autores (2018) com treinamento agudo para camundongos, demonstrando um efeito protetivo com o aumento desses níveis.

Dentro da quantificação dos marcadores de danos oxidativos e mediadores inflamatórios, o presente estudo identificou que a MPO, um marcador de neutrófilos e um marcador inflamatório,

apresentou-se significativamente diminuído após a utilização do exercício físico resistido e da associação dentre auriculoterapia e exercício físico resistido, corroborando com os achados de Acioli (2014) e Santos (2012) que apresentaram redução de MPO associados a tratamento com eletroacupuntura em camundongos e também com Mota (2013) que sugere um efeito protetivo ao aumento da atividade da MPO após o exercício físico. A diminuição desse marcador sugere um efeito protetivo no que se refere à diminuição dos efeitos deletérios que espécies reativas de oxigênio podem causar no organismo.

A peroxidação dos lipídeos que exprime indiretamente a ação dos radicais livres no soro, servindo também como alternativa na mensuração do estresse oxidativo, é avaliada por meio da concentração de TBARS. Os valores de TBARS sérico foram diminuídos significante no grupo auriculoterapia e no grupo associativo de auriculoterapia e exercício físico resistido quando comparados com os valores anteriores à intervenção, corroborando com os achados de Azizbeigi et al. (2013) que aplicaram 8 semanas de exercícios de resistência e com Acioli (2014) que aplicou eletroacupuntura em camundongos.

Os achados de um ensaio randomizado realizado por Santos et al. (2019) vão de encontro com os resultados encontrados na presente pesquisa, no qual o efeito agudo do exercício de vibração de corpo inteiro (VCI) nos marcadores de estresse oxidativo em mulheres de meia-idade com fibromialgia, promoveu uma redução na atividade enzimática TBARS (MDA) sugerindo um efeito modulatório sobre o balanço Retox.

Outro marcador de processos inflamatórios é Proteína C-reativa, que assim como Abdi et al. (2012) após realização de protocolo de acupuntura em pacientes obesos e Viana et al. (2014) posteriormente ao treinamento físico em pacientes com risco cardiovascular, não apresentou mudança ou diferenças significativas. Devido a sensibilidade e a instabilidade da técnica para determinação desse mediador, pequenas alterações fisiológicas podem interferir no resultado, principalmente por se tratar de uma técnica para determinação de processos inflamatórios de fase aguda.

Tratando-se dos padrões bioquímicos de rotina dos pacientes em hemodiálise, o presente estudo comprova o que Melo e autores (2020) relatam após intervenções baseadas em técnicas de acupuntura auricular, eletroacupuntura e acupressão, no que se refere ao aumento dos valores de TFG. Entretanto os resultados são opostos nos valores de Albumina, Glicose, Sódio e Ureia, nos quais Melo e autores (2020) não demonstram diferenças significativas e a atual pesquisa denota resultados significativamente positivos.



Segundo Oliveira e autores (2020) a rotina bioquímica após exercício aeróbico intradialítico foi alterada, denotando aumento nos valores séricos de Cálcio, Sódio e Ureia e não demonstrando diferença na TFG. Todavia, nesse estudo foi possível observar diferenças significativas após as sessões de exercício físico resistido na TFG, na Albumina e corroborando com Oliveira e autores (2020) nos níveis de Sódio.

A alteração bioquímica proporcionada pelos tratamentos não farmacológicos de auriculoterapia e exercício físico resistido, pode ser uma ferramenta eficaz para o tratamento e para o manejo clínico da doença renal crônica, visando a sua utilização como tratamentos auxiliares e complementares ao tratamento intensivista hemodialítico (MELO et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2020)

Além de alterações fisiológicas, pacientes em hemodiálise apresentam alterações na percepção de qualidade de vida, devido todas as conjunturas e consequências que sua condição de saúde proporciona. Tendo sua qualidade de vida alterada, pode-se constatar um manejo clínico com maiores dificuldades, considerando os impactos que a diminuição da qualidade de vida pode causar sobre a saúde física e mental destes pacientes (BEZERRA, HORA, GIL, 2018; SANTOS, et al., 2018).

A melhora na qualidade de vida dos pacientes após intervenção com exercício físico resistido foi constatada no presente estudo, corroborando com outros estudos que relatam efeitos positivos de intervenções com exercícios físicos na qualidade de vida de pacientes com doença renal crônica. Segura-Orti et al. (2008) estudaram 16 pacientes de hemodiálise e observaram melhora da saúde mental após intervenção com exercício de força, concomitantemente Oh-Park et al. (2002) relatam que a combinação de exercícios de força com aeróbios também causou melhora nos componentes físicos e mentais de 22 pacientes em hemodiálise.

Referindo-se a auriculoterapia é possível constatar melhora significativa na percepção de qualidade de vida pelos pacientes em hemodiálise, o que também é retratado por Wang et al. (2014) referente seu protocolo de estimulação auricular realizado em pacientes diagnosticados com doença renal crônica durante o procedimento de hemodiálise. É perceptível melhora nos domínios social, físico e psicológico, o que denota a auriculoterapia como um tratamento eficaz quando utilizado como intervenção visando melhora da qualidade de vida e na saúde de pacientes com doença renal crônica.

## 8 CONCLUSÃO

A partir dos resultados encontrados na presente pesquisa, o uso da auriculoterapia e do exercício físico resistido associados ou não, apresentam-se como terapias não farmacológicas promissoras no controle do estresse oxidativo, na regulação da rotina bioquímica e na melhoria da qualidade de vida dos pacientes com doença renal crônica durante tratamento hemodialítico.

Os danos oxidativos foram diminuídos após as intervenções, a saber: MPO (exercício físico resistido e associação entre auriculoterapia e exercício físico resistido) e TBARS (auriculoterapia e associação entre auriculoterapia e exercício físico resistido); enquanto a defesa antioxidante não enzimática (Vitamina C) foi aumentada após as intervenções de exercício físico resistido e associação de auriculoterapia e exercício físico resistido; e a defesa antioxidante enzimática (SOD) foi aumentada após todos os tratamentos realizados.

Ao que diz respeito à rotina bioquímica dos pacientes, a alteração proporcionada pelos tratamentos não farmacológicos de auriculoterapia e exercício físico resistido nos valores de TFG, Albumina, Cálcio, Glicose, Sódio e Ureia, pode ser uma ferramenta eficaz para o tratamento e para o manejo clínico da doença renal crônica, visando a utilização dessas intervenções como tratamentos auxiliares e complementares ao tratamento intensivista hemodialítico.

Referente a melhora na qualidade de vida verifica-se resultados em todos os domínios (físico, psicológico e social) dando ênfase após a utilização combinada de auriculoterapia e exercício físico resistido, enquanto as intervenções individuais de auriculoterapia e exercício físico resistido apresentaram melhoras em alguns componentes, sendo eles aspectos físicos, dor e aspectos emocionais e aspectos físicos, dor, aspectos emocionais e saúde mental, respectivamente.

Conclui-se, então, que a aplicação dos tratamentos de auriculoterapia e de exercício físico resistido em pacientes submetidos à hemodiálise promoveram proteção sobre o estresse oxidativo por aumento dos níveis de antioxidantes, além de reduzir as espécies reativas de oxigênio e de alguns mediadores que sugerem processos inflamatórios. Esses tratamentos não farmacológicos também alteraram marcadores bioquímicos rotineiros dos pacientes e para mais serviram como ferramentas para o aumento da percepção de qualidade de vida.

## REFERÊNCIAS

ABDI H, et al. Effects of auricular acupuncture on anthropometric, lipid profile, inflammatory, and immunologic markers: a randomized controlled trial study. **J Altern Complement Med.** v.18, n.7, p. 668-677, 2012.

ABDI, H. et al. The effects of body acupuncture on obesity: anthropometric parameters, lipid profile, and inflammatory and immunologic markers. **ScientificWorldJournal.** v.18, n.8, p. 603-539, 2012.

ACIOLI, Porfírio Cezar Passos. Efeitos da acupuntura e da eletroacupuntura sobre o estresse oxidativo e a inflamação decorrentes da torção/distorção do testículo em ratos. Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, Brasil, 2014.

ALI, S. F.; LEBEL, C. P.; BONDY, S. C. Reactive oxygen species formation as a biomarker of methylmercury and trimethyltin neurotoxicity. **Neurotoxicology**, v. 13, n. 3, p. 637–648, 1992.8

ALIMI D, CHELLYJE. New universal nomenclature in auriculotherapy. **J Altern Complement Med.** v.24, n.1, p.7-14, 2018.

AOIKE D T, et al. Impact of home-based aerobic exercise on the physical capacity of overweight patients with chronic kidney disease. **Int Urol Nephrol.** v.47, n.2, p.359-67, 2015.

ARTIOLI, D. P.; TAVARES, A. L. de F.; BERTOLINI, G. R. F. Auriculotherapy: neurophysiology, points to choose, indications and results on musculoskeletal pain conditions: a systematic review of reviews. **Brazilian Journal Of Pain**, v. 2, n. 4, 2019.

ASHER, G. N. et al. Auriculotherapy for Pain Management: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 16, n. 10, p. 1097–1108, 2010.

BASTOS, M.G.; KIRSZTAJN, G.M. Doença renal crônica: importância do diagnóstico precoce, encaminhamento imediato e abordagem interdisciplinar estruturada para melhora do desfecho em pacientes ainda não submetidos à diálise. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 33, n. 1, p. 93-108, 2011.

BEZERRA, Rosana Mendes; HORA, Ana Cláudia Campos Ferreira da; GIL, Meiriane Martins. **Hemodiálise e a experiência de mudança de vida.** Associação educativa Unievangélica, 3º congresso internacional de pesquisa, ensino e extensão (CIPEEX), 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Diretrizes Clínicas para o Cuidado ao Paciente com Doença Renal Crônica – DRC no Sistema Único de Saúde.** Brasília – DF. 2014a.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. **PORTARIA N° 712, DE 13 DE AGOSTO DE 2014. Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Imunossupressão no Transplante Renal.** Brasília – DF. 2014b.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. **PORTARIA N° 666, DE 17 DE JULHO DE 2012: Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas - Imunossupressão no Transplante Renal.** 2012c. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2012/prt0666\\_17\\_07\\_2012.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2012/prt0666_17_07_2012.html)>. Acesso em: 26 dez. 2021.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. **PORTARIA N° 2.600, DE 21 DE OUTUBRO DE 2009. Aprova o Regulamento Técnico do Sistema Nacional de Transplantes.** 2009d. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2009/prt2600\\_21\\_10\\_2009.html#:~:text=Aprova%20o%20Regulamento%20T%C3%A9cnico%20do%20Sistema%20Nacional%20de%20Transplantes.&text=1%C2%BA%20Aprovar%20o%20Regulamento%20T%C3%A9cnico%20do%20Sistema%20Nacional%20de%20Transplantes](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2009/prt2600_21_10_2009.html#:~:text=Aprova%20o%20Regulamento%20T%C3%A9cnico%20do%20Sistema%20Nacional%20de%20Transplantes.&text=1%C2%BA%20Aprovar%20o%20Regulamento%20T%C3%A9cnico%20do%20Sistema%20Nacional%20de%20Transplantes)>. Acesso em: 26 dez. 2021.

BRATTI, Tatiane. Caracterização comportamental, bioquímica e farmacológica e efeito da natação sobre o modelo experimental da síndrome da dor complexa regional tipo I em camundongos. Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Neurociências da Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, 2011.

BRIEGER, K. et al. Reactive oxygen species: from health to disease. **Swiss Med Wkly**, v. 142, p. 1-14, 2012.

CHADBAN, S. et al. KDIGO Clinical Practice Guideline on the Evaluation and Management of Candidates for Kidney Transplantation. **Transplantation**, Vol 104 - Edição 4S1 - p 11-103. 2020.

CHEEMA B.S., et al. Progressive exercise for anabolism in kidney disease (PEAK): a randomized, controlled trial of resistance training during hemodialysis. **J Am Soc Nephrol**. v.18, n.5, p. 1594-1601, 2007.

CICONELLI RM, FERRAZ MB, SANTOS W. Tradução para a língua portuguesa e validação do questionário genérico de avaliação de qualidade de vida SF-36 (Brasil SF-36). **Rev Bras Reumatol** v.9, n.39, p.143-50, 1999.

COSTA, Carolina M. da; SANTOS, Rita C. C. dos; LIMA, Emerson S. A simple automated procedure for thiol measurement in human serum samples. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 42, n. 5, 2006.

DÍAZ, B. B. et al. Myokines, physical activity, insulin resistance and autoimmune diseases. **Immunology Letters**, v. 203, p.1-5, Nov. 2018.

DIAZ-BRUXO JA, WOODS HF. Protecting the endothelium: A new focus for management of chronic kidney disease. **Hemodial Int**. v.10, p.42-80, 2006.

ECKARDT, K. et al. Myokines in insulin resistance and type 2 diabetes. **Diabetologia**, v. 57, n. 6, p.1087-1099, 2014.

ELLMAN, George L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 82, n. 1, p. 70–77, 1959.

FADAEE, S. B., et al. Oxidative stress is associated with decreased heart rate variability in patients with chronic kidney disease. **Redox Report**, v.26, n.5, p.197-204, 2016

FLEMING, G. M. Renal replacement therapy review. **Organogenesis**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 2-12, 2011.

FRANTZ, Alexsandro, Luís. Acaliação do efeito de acupuntura manual sobre convulsões induzidas por pentilenotetrazol no modelo de *Kindling* em camundongos. Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2016.

- GALLEY, H. Ascorbyl radical formation in patients with sepsis: Effect of ascorbate loading. **Free Radical Biology and medicine**, v. 20, n. 1, p. 139–143, 1996.
- GALLI, F. et al. Oxidative stress and reactive oxygen species. **Contrib Nephrol**, v. 149, p. 240-60, 2005.
- GESUALDO, G. D. et al. Fragilidade e fatores de risco associados em pacientes com doença renal crônica em hemodiálise. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 25, n. 11, p. 4631–4637, nov. 2020.
- HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. **Nutr Rev**, v. 70, n. 5, p. 257- 265, 2012.
- HECHANOVA. L. A. **Complicações do tratamento de substituição renal**. Manual MSD, 2019. Acesso em: 26 dez. 2020.
- HEIWE S, JACOBSON S H. Exercise Training in Adults With CKD: A Systematic Review and Meta-analysis. **Am J Kidney Dis**. v.64, n.3, p. 383-393, 2014.
- HOU, P W, et al. The history, mechanism, and clinical application of auricular therapy in traditional Chinese medicine. **Evid Based Complement Alternat Med**. 2015.
- JESUS, Nabady Maria, et al. Qualidade de vida de indivíduos com doença renal crônica em tratamento dialítico. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. v. 41, n. 3, p. 364-374, 2019.
- JOHANSEN, K.L.,et al.. Effects of resistance exercise training and nandrolone decanoate on body composition and muscle function among patients who receive hemodialysis: A randomized, controlled trial. **J Am Soc Nephrol**; v.17, n.8, p.2307-2314, 2006.
- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. **KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease**. v. 3, n. 1, p. 1–150, jan. 2013.
- KUDOH, Y. et al. Hemodynamic stabilizing effects of L-carnitine in chronic hemodialysis patients. **Cardiorenal medicine**, v. 3, n. 3, p. 200-207, 2013.
- LEAL, M. et al. Opções de Tratamento. Associação Portuguesa de Insuficientes Renais. Outubro de 2016. Disponível em: <https://www.apir.org.pt/wp-content/uploads/2017/04/Op%C3%A7%C3%B5es-de-tratamento.pdf>
- LOAIZA, L.A., et al.. Electro-acupuncture stimulation to muscle afferents in anesthetized rats modulates the blood flow to the knee joint through autonomic reflexes and nitric oxide. **Auton Neurosci**. v.97, p.103-109, 2002.
- LOPES, S. S.; SULIANO, L. C. **Protocolos Clínicos de Auriculoterapia**. 2ª ed. p. 172. Omnipax. Curitiba. 2020
- LU Y, LI G. Auricular acupuncture induces FNDC5/irisin and attenuates obese inflammation in mice. **Acupunct Med**.; v.38, n.4, p. 264-271, 2020.
- LUGON, J. R.; STROGOFF J. P.; WARRAK, M. E. A. Hemodialise. In: Riella MC. **Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos**. 4a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003.

- MAGHERINI, F. et al. Oxidative stress in exercise training: the involvement of inflammation and peripheral signals. **Free Radical Research**, v. 53, n. 11–12, p. 1155–1165, 2019.
- MARINHO, L. C. R. et al. Visita domiciliar como suporte da enfermagem na diálise peritoneal: revisão integrativa. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 33, 2020.
- MARQUES, Veronius da Rosa et al. Avaliação da intensidade da dor de pacientes renais crônicos em tratamento hemodialítico. **Revista Dor**. v. 17, n. 2, p. 96-100. 2016.
- MATOS, É. F.; LOPES, A. Modalidades de hemodiálise ambulatorial: breve revisão. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 22, n.1, p. 569–571, 2009.
- MELO, G.A.A., et al. Efeitos da acupuntura em pacientes com insuficiência renal crônica: revisão sistemática. **Revista Brasileira de Enfermagem**. v.73, n.4, p. 1-9, 2020.
- MELO, R N R et al. Auriculotherapy to control chemotherapy-induced nausea and vomiting in patients with cancer: protocol of a systematic review. **Syst Rev**. v.8, n.206, 2019.
- MURAKAMI M, et al. Ear acupuncture for immediate pain relief- -a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Pain Med**. v. 18, n.3, p.551-64, 2017.
- NOLÊTO, I.S.C. et al. Complicações graves evitáveis pela equipe de enfermagem ao paciente em hemodiálise. **Revista Eletrônica Acervo Saúde/ElectronicJournalCollection Health** v. 9, n.3, p. 1153-1158, 2017.
- OHKAWA, Hiroshi; OHISHI, Nobuko; YAGI, Kunio. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351–358, 1979.
- OLIVEIRA FS, et al. The effects of aerobic exercise on biochemical parameters in individuals with CKD on hemodialysis: A longitudinal study. **J Hum Growth Dev**.v.30, n.2, p. 251-259, 2020.
- OH-PARK M, et al. Exercise for the dialyzed: Aerobic and strength training during haemodialysis. **Am J Phys Med Rehabil**. v.81, p. 814-821, 2002.
- PEDRUZZI, L.M., et al. Associação entre níveis de ferritina e peroxidação lipídica em pacientes em hemodiálise. **J Bras Nefrol**; v.37, n.2, p.171-176, 2015.
- PILLON, N. J. et al. Cross-talk between skeletal muscle and immune cells: muscle-derived mediators and metabolic implications. **American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism**, v.304, n.5, p.453-365, 2013.
- QUADROS, L. BARROS, RLS. Vitamina C e performance: uma revisão. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**. São Paulo. v. 10. n. 55. p.112-119
- RAMALHO, J. et al. Músculos: como nos movimentamos? Contração Muscular - UNESP, 2000. Disponível em: <https://museuescola.ibb.unesp.br/subtopico.php?id=2&pag=2&num=3&sub=21>
- RODRIGUES, Jhenifer Kliemchen; DIB, Luciana Azôr; FERRIANI, Rui Alberto; et al. Marcadores séricos de estresse oxidativo e resultados dos procedimentos de reprodução assistida em pacientes inférteis com síndrome dos ovários policísticos e controles. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 32, n. 3, p. 118–125, 2010.

- RUELA, L. DE O. et al. Efetividade da acupuntura auricular no tratamento da dor oncológica: ensaio clínico randomizado. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 52, n. 0, 13 dez. 2018.
- SAHNI, N.; GUPTA, K. L. Dietary antioxidants and oxidative stress in predialysis chronic kidney disease patients. **J Nephrop**, Vol. 1, No 3 October 2012.
- SAHNI, N.; et al.. Intake of Antioxidants and their Status in Chronic Kidney Disease Patients. **J Ren Nutr**. v.22, n.4, p. 389–399, 2015.
- SANDS, J.J. et al. Intradialytic hypotension: frequency, sources of variation and correlation with clinical outcome. **Hemodialysis International**, v. 18, n. 2, p. 415-422, 2014.
- SANTOS, E. L. W. Efeitos da acupuntura, eletroacupuntura e metformina sobre o estresse oxidativo, inflamação e glicemia em ratas sadias submetidas a estímulo estrogênico. Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, Brasil, 2012.
- SANTOS, J. M; MENDONÇA, V. A; RIBEIRO, V. G. C; et al. Does whole body vibration exercise improve oxidative stress markers in women with fibromyalgia? **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.52, n.8, 2019.
- SANTOS, Viviane Fernandes Conceição dos et al. Percepções, significados e adaptações à hemodiálise como um espaço liminar: a perspectiva do paciente. **Interface - Comunicação, Saúde, Educação**, v. 22, n. 66, p. 853-863, 5 abr. 2018.
- SEGURA-OTÍ, R. A. et al. Physiotherapy during hemodialysis: results of a progressive resistance-training programme. **Nefrologia**. v.28, n.1, p. 67-72, 2008.
- SIES, H. **Oxidative stress**: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol*, v. 4, p. 180-183, 2015.
- SILVA, P. A. B. et al. Brazilian public policy for chronic kidney disease prevention: challenges and perspectives. **Revista de Saúde Pública**, v. 54, p. 86, 22 ago. 2020.
- SILVÉRIO-LOPES, S.; SEROISKA, M. A. **Auriculoterapia para Analgesia**. Capítulo 1. 2013. Pág. 1-22.
- SIMIONI, C. et al. Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging. **Oncotarget**, v. 9, n. 24, p. 17181-17198, 2018.
- SELMECI, László; SERES, Leila; ANTAL, Magda; *et al.* Advanced oxidation protein products (AOPP) for monitoring oxidative stress in critically ill patients: a simple, fast and inexpensive automated technique. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, v. 43, n. 3, 2005.
- SESSO, R. C. et al. Inquérito Brasileiro de Diálise Crônica 2013 - Análise das tendências entre 2011 e 2013. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 36, n. 4, 2014.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA (SBD). Atualização das diretrizes de prevenção cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiro de Cardiologia**, v.113,

n.4, p.787-891, 2019.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. **Hemodiálise - SBN**. Disponível em: <<https://www.sbn.org.br/orientacoes-e-tratamentos/tratamentos/hemodialise/>>. Acesso em: 28 dez. 2020.

SUZUKI, Kazuo; OTA, Hiromi; SASAGAWA, Sumiko; *et al.* Assay method for myeloperoxidase in human polymorphonuclear leukocytes. **Analytical Biochemistry**, v. 132, n. 2, p. 345–352, 1983.

TAN, B.L., NORHAIZAN, M.E., LIEW, W.P. Nutrients and Oxidative Stress: Friend or Foe? **Oxid Med Cell Longev**, v. 32, n. 2018, p. 1-24, 2018.

THIRUPATHI, A.; PINHO, R.A.; CHANG, Y.Z. Physical exercise: an inducer of positive oxidative stress in skeletal muscle aging. **Life Sciences**, v. 252, n. 2020, p. 1-11, 2020.

TOBOREK, M. et al. Effect of hemodialysis on lipid peroxidation and antioxidant system in patients with chronic renal failure. **Metabolism**. v.41, n.11, p. 1229-1232, 1992.

TROMM, C. B. et al. A diferença de idade é um fator determinante na modulação do estresse oxidativo muscular induzido pelo exercício agudo. **Revista Brasileira de Ciências do Esporte**. v.40, n.3, p.273-280, 2018.

VIANA, P. A. D.C., et al. Effect of a Regular Aerobic Exercise Program on C-Reactive Protein among People at Risk for Cardiovascular Disease. **Rev. bras. cardiol.** v.27, n.3, p.172-179, maio-jun. 2014

WANG, Shaoqing et al. Uso da acupressão auricular para melhorar a qualidade de vida em pacientes diabéticos com doenças renais crônicas: um estudo prospectivo randomizado controlado. **Evidence-Based Complement Altern Med**, 2014.

WARE JE, GANDEK B, IQOLA Project Group. The SF-36 Health Survey: development and use in mental health research and the IQOLA project. **Int J Ment Health**. v.23, p. 49-73, 1994.

YANG, B.; CHEN, Y.; SHI, J. Reactive Oxygen Species (ROS)-Based Nanomedicine. **Chen Rev.** v. 119, n. 8, p. 4881-4985, 2019.

YEH, C. H. et al. Efficacy of Auricular Therapy for Pain Management: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, p. 1–14, 2014.

ZARGARI, M.; SEDIGHI, O. Influence of Hemodialysis on Lipid Peroxidation, Enzymatic and Non-Enzymatic Antioxidant Capacity in Chronic Renal Failure Patients. **Nephro Urol Mon.** 2015 July; 7(4): e28526. DOI: 10.5812/numonthly. 28526 Published online 2015 July 29.

ZIJSTRA F J, et al. Anti-inflammatory actions of acupuncture. **Mediators of Inflammation**. v.12, n.2, p. 59-69, 2003.



## ANEXO I

## Versão Brasileira do Questionário de Qualidade de Vida -SF-36

1- Em geral você diria que sua saúde é:

Excelente	Muito Boa	Boa	Ruim	Muito Ruim
1	2	3	4	5

2- Comparada há um ano atrás, como você se classificaria sua idade em geral, agora?

Muito Melhor	Um Pouco Melhor	Quase a Mesma	Um Pouco Pior	Muito Pior
1	2	3	4	5

3- Os seguintes itens são sobre atividades que você poderia fazer atualmente durante um dia comum. Devido à sua saúde, você teria dificuldade para fazer estas atividades? Neste caso, quando?

Atividades	Sim, dificulta muito	Sim, dificulta um pouco	Não, não dificulta de modo algum
a) Atividades Rigorosas, que exigem muito esforço, tais como correr, levantar objetos pesados, participar em esportes árduos.	1	2	3
b) Atividades moderadas, tais como mover uma mesa, passar aspirador de pó, jogar bola, varrer a casa.	1	2	3
c) Levantar ou carregar mantimentos	1	2	3
d) Subir vários lances de escada	1	2	3
e) Subir um lance de escada	1	2	3
f) Curvar-se, ajoelhar-se ou dobrar-se	1	2	3
g) Andar mais de 1 quilômetro	1	2	3
h) Andar vários quarteirões	1	2	3
i) Andar um quarteirão	1	2	3
j) Tomar banho ou vestir-se	1	2	3

4- Durante as últimas 4 semanas, você teve algum dos seguintes problemas com seu trabalho ou com alguma atividade regular, como consequência de sua saúde física?

	Sim	Não
a) Você diminui a quantidade de tempo que se dedicava ao seu trabalho ou a outras atividades?	1	2
b) Realizou menos tarefas do que você gostaria?	1	2

c) Esteve limitado no seu tipo de trabalho ou a outras atividades.	1	2
d) Teve dificuldade de fazer seu trabalho ou outras atividades (p. ex. necessitou de um esforço extra).	1	2

5- Durante as últimas 4 semanas, você teve algum dos seguintes problemas com seu trabalho ou outra atividade regular diária, como consequência de algum problema emocional (como se sentir deprimido ou ansioso)?

	Sim	Não
a) Você diminui a quantidade de tempo que se dedicava ao seu trabalho ou a outras atividades?	1	2
b) Realizou menos tarefas do que você gostaria?	1	2
c) Não realizou ou fez qualquer das atividades com tanto cuidado como geralmente faz.	1	2

6- Durante as últimas 4 semanas, de que maneira sua saúde física ou problemas emocionais interferiram nas suas atividades sociais normais, em relação à família, amigos ou em grupo?

De forma nenhuma	Ligeiramente	Moderadamente	Bastante	Extremamente
1	2	3	4	5

7- Quanta dor no corpo você teve durante as últimas 4 semanas?

Nenhuma	Muito leve	Leve	Moderada	Grave	Muito grave
1	2	3	4	5	6

8- Durante as últimas 4 semanas, quanto a dor interferiu com seu trabalho normal (incluindo o trabalho dentro de casa)?

De maneira alguma	Um pouco	Moderadamente	Bastante	Extremamente
1	2	3	4	5

9- Estas questões são sobre como você se sente e como tudo tem acontecido com você durante as últimas 4 semanas. Para cada questão, por favor dê uma resposta que mais se aproxime de maneira como você se sente, em relação às últimas 4 semanas.

	Todo Tempo	A maior parte do tempo	Uma boa parte do tempo	Alguma parte do tempo	Uma pequena parte do tempo	Nunca
a) Quanto tempo você tem se sentindo cheio de vigor, de vontade, de força?	1	2	3	4	5	6

b) Quanto tempo você tem se sentido uma pessoa muito nervosa?	1	2	3	4	5	6
c) Quanto tempo você tem se sentido tão deprimido que nada pode anima-lo?	1	2	3	4	5	6
d) Quanto tempo você tem se sentido calmo ou tranqüilo?	1	2	3	4	5	6
e) Quanto tempo você tem se sentido com muita energia?	1	2	3	4	5	6
f) Quanto tempo você tem se sentido desanimado ou abatido?	1	2	3	4	5	6
g) Quanto tempo você tem se sentido esgotado?	1	2	3	4	5	6
h) Quanto tempo você tem se sentido uma pessoa feliz?	1	2	3	4	5	6
i) Quanto tempo você tem se sentido cansado?	1	2	3	4	5	6

10- Durante as últimas 4 semanas, quanto de seu tempo a sua saúde física ou problemas emocionais interferiram com as suas atividades sociais (como visitar amigos, parentes, etc)?

Todo Tempo	A maior parte do tempo	Alguma parte do Tempo	Uma pequena parte do tempo	Nenhuma parte do tempo
1	2	3	4	5

11- O quanto verdadeiro ou falso é cada uma das afirmações para você?

	Definitivamente verdadeiro	A maioria das vezes verdadeiro	Não sei	A maioria das vezes falso	Definitivamente falso
--	----------------------------	--------------------------------	---------	---------------------------	-----------------------

a) Eu costumo obedecer um pouco mais facilmente que as outras pessoas	1	2	3	4	5
b) Eu sou tão saudável quanto qualquer pessoa que eu conheço	1	2	3	4	5
c) Eu acho que a minha saúde vai piorar	1	2	3	4	5
d) Minha saúde é excelente	1	2	3	4	5

## ANEXO II

### PROTOCOLO PARA DETERMINAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS) *EM PLASMA*

#### **Princípio da Técnica:**

A lipoperoxidação (LPO) pode ser definida como uma cascata de eventos bioquímicos resultante da ação dos radicais livres (RL) sobre os lipídeos insaturados das membranas celulares, gerando principalmente L', LO' e LOO', levando à grave alteração da membrana celular, causando perda da fluidez, alteração da função secretora e dos gradientes iônicos transmembrana.

As alterações nas membranas levam a transtornos da permeabilidade, alterando o fluxo iônico e o fluxo de outras substâncias, o que resulta na perda da seletividade para entrada e/ou saída de nutrientes e substâncias tóxicas à célula, alterações do DNA, oxidação da LDL e comprometimento dos componentes da matriz extra-celular (proteoglicanos, colágeno e elastina) (Vaca, Wilhem, Harms-Ringdahl, 1988; Baber, Harris, 1994)

A geração de RL e a LPO são reações extremamente rápidas, que são, geralmente, mensuradas pelos seus produtos, principalmente as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), entre as quais o malondialdeído é o principal. A formação de malondialdeído, pela quebra de ácidos graxos poliinsaturados, é um conveniente método para se determinar o grau de peroxidação lipídica, sendo assim uma ferramenta para o monitoramento das propriedades antioxidantes de qualquer substância (PATOCKOVA et al., 2003).

#### **Preparo das Soluções:**

##### **BHT 10mM**

-di-terc-butil metil fenol (Butylated hydroxytoluene - BHT); massa molar: 220g. - Pesar 0,220g e diluir em 70 mL de etanol. - Completar o volume em um balão volumétrico até 100 mL com água destilada. - Guardar em um frasco e armazenar na geladeira

##### **MDA 0,03mM**

Preparar 25mL de solução mãe e diluir até obter a concentração de 0,03mM.

##### Solução Mãe:

- Para a solução mãe (3mM) pipetar 18 microlitros de malonaldeído diethylacetal (MDA,  $d=0,919\text{g/mL}$ ) e diluir em 25mL de água destilada. Fracionar em eppendorfs e congelar! Validade 18 meses congelado a  $-20^{\circ}\text{C}$ . (SEMPRE CONFERIR A DENSIDADE DO MDA!!!)

*Solução de Uso:*

- Diluir 0,5mL da solução mãe em 49,5mL de água destilada, obtendo assim 50mL de uso de MDA 0,03mM. Estável por no Max. 2h em banho de gelo.

**H3PO41%**

- Verificar a pureza de ácido fosfórico (geralmente 85%), fazendo o cálculo:

lmL ----- 85%

X ----- 100%

$x = 1,18 \text{ mL}$  - Colocar um pouco de água destilada na proveta antes do ácido fosfórico (proveta de 100 mL)

- Pipetar 1,18 mL de H3PO4 e colocar na proveta (ácido sobre a água). - Completar a proveta até 100 mL com água destilada. - Guardar em um frasco e armazenar na geladeira.

**SDS 8,1%**

- Pesar 8,1g, dissolver em um béquer com aproximadamente 75 mL de água destilada.

- Completar o volume com água destilada até 100 mL. - Colocar em um frasco e deixar na geladeira.

**TBA 0,6%**

- Pesar 0,6g de ácido tiobarbitúrico e dissolver em aproximadamente 75 mL de água destilada.

- Completar o volume com água destilada em uma proveta de 100mL.

- Guardar em um frasco âmbar, sonicar por 5 minutos em temperatura ambiente e deixar decantar antes do uso. Usar apenas o sobrenadante. Armazenar na geladeira. Validade: 30 dias.

**Preparo da Amostra:**

Coletar o sangue com anticoagulante (EDTA). Homogeneizar lentamente o sangue coletado e centrifugar por 10 minutos a 3000 rpm. Separar o plasma (amostra a ser utilizada) e armazenar na geladeira até o momento do uso.

**Curva Padrão e amostras:** Pipetar os tubos da amostra e da curva conforme o quadro descrito abaixo na seguinte ordem:

	H <sub>2</sub> O	BHT	MDA	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> 1%	SDS 8,1%	TBA 0,6%	Plasma
Branco	50 µL	5 µL	----	295 µL	25 µL	125 µL	----
C1	43,7 µL	5 µL	6,25 µL	295 µL	25 µL	125 µL	----
C2	37,5 µL	5 µL	12,5 µL	295 µL	25 µL	125 µL	----
C3	25 µL	5 µL	25 µL	295 µL	25 µL	125 µL	----
C4	----	5 µL	50 µL	295 µL	25 µL	125 µL	----
Amostra	25 µL	5 µL	----	295 µL	25 µL	125 µL	50 µL

Volume final: 500 uL

- Incubar no banho-maria por 1h a aproximadamente 95°C.
- Após banho, esperar os tubos esfriarem e centrifugar as amostras e seus respectivos brancos por 10 minutos à 1000 RPM.
- Ler em espectrofotômetro em 532 nm.
- A estabilidade da cor para a leitura é de 1 hora.

#### **Cálculo da quantidade de MDA:**

Fazer a curva de concentração e achar a equação da reta ou achar o fator de calibração médio (=concentração/absorbância).

#### **Referência (s) bibliográfica:**

OHKAWA, H.; OHISHI, H.; YAGI, K. Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Anal. Biochem.** v.95, p. 351–358, 1979. JENTZSCH, A.M.; BACHMANN, H.; FURST, P.; BIESALSKI, H. K. Improved analysis human of malondialdehyde in body fluids. **Free Radical Biology & Medicine.** v. 20, n. 2, p. 251-256, 1996

### ANEXO III

## PROTOCOLO PARA DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO ASCORBICO (VITAMINA C) EM MICROPLACAS

### Reagentes:

**Vitamina C – estoque:** 20 mg de ácido ascórbico: 20ml ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>0,1M)

**Solução de vitamina C para uso no dia:** 1 ml de estoque 20ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>0,1M

**TCA 13,3%:** Pesar 13,3g de ácido tricloroacético (TCA) em 100ml de água destilada.

**DNPH:** Pesar 2g de DNPH (P.A. ou 97%), 0,23g de tiuréia e 0,27g de sulfato de cobre. Diluir essa mistura em 49ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>PURO, e depois completa-se para 100ml de água destilada. Armazenar em frasco âmbar de vidro.

**NO GELO:** Pegar um bécker de 100ml, colocar 35 ml de água destilada e vai virando aos poucos 65 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (medido em proveta). (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 65%)

### PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS:

**Soro/plasma:** 500ul de amostra + 500ul de TCA 10%. Agitar no vortex. Centrifugar por 15 min. A 3500 rpm. Retirar o sobrenadante e colocar nos tubos para incubar.

**TCA 10%:** Dissolver 10g de TCA em 100ml de água destilada.

### CURVA

	Ácido ascórbico	H <sub>2</sub> O	TCA 13,3%	DNPH
Branco	----	50 µL	80 µL	20 µL
Poço 1	10 µL	40 µL	80 µL	20 µL
Poço 2	20 µL	30 µL	80 µL	20 µL
Poço 3	30 µL	20 µL	80 µL	20 µL

### Quantificação:

Amostra	H <sub>2</sub> O	TCA 13,3%	DNPH
---------	------------------	-----------	------



100 $\mu\text{L}$	25 $\mu\text{L}$	25 $\mu\text{L}$	20 $\mu\text{L}$
-------------------	------------------	------------------	------------------

Pipeta-se as quantidades acima em triplicata.

A ordem para pipetagem é: Amostra, água, TCA e por último DNPH.

Após a pipetar o DNPH deve-se incubar imediatamente.

Incubação de 2 horas à 37°C

Leitura em 520nm

**Referência (s) bibliográfica:**

Galley, HF, Davies MJ, Webster NR. Ascorbyl radical formation in patients with sepsis: effect of ascorbate loading. *Free Radic Biol Med.* 1996;20(1):139-43.

Jacques-Silva MC, Nogueira CW, Broch LC, Flores EM, Rocha JB. Diphenyl diselenide and ascorbic acid changes deposition of selenium and ascorbic acid in liver and brain of mice.

*Pharmacol Toxicol.* 2001;88(1):119-25.

## ANEXO IV

**PROTOCOLO PARA DETERMINAÇÃO DE TIÓIS PROTEICOS (PSH) E NÃO  
PROTEICOS (NPSH)**

Amostra: Plasma com EDTA

Preparo dos reagentes:

**TCA 10%:** Dissolver 10g de TCA em 100ml de água destilada.

**TFK 50mM pH 6,8:**

Fosfato de potássio **monobásico** anidro

136,09 -----1000mm

X ----- 50Mm X=6,8

6,8----- 1000mL

X -----250mL

X= 1,7g em 250mL de água destilada

Fosfato de potássio **dibásico**

174,16 -----1000mM

X----- 50mM x=8,7

8,7 -----1000mL

X-----250mL

x=2,17g em 250mL de água destilada

**Obs.:** Pesar os dois fosfatos nas quantidades indicadas e dissolver em 250ml com água destilada (preparar os dois separadamente). Colocar o mono sobre o di até acertar o pH em 6,8 (não vai todo o mono).

**DTNB 10 mM:**

Preparar em baixa luminosidade (reagente fotossensível). Cuidado ao lidar com DTNB (tóxico).

Massa molar DTNB: 396,35 g/mol. Sendo assim:

- Adicionar 0,7927 g de DTNB +0,06 g de NaHCO<sub>3</sub> (Bicarbonato de sódio);
- Diluir em 180 mL de TFK pH 7,0 em um balão volumétrico de 200 mL;
- Agitar até dissolução total dos reagentes;
- Completar o volume (para 200 mL) com o TFK pH 7,0.

**Observações:** O DTNB é um reagente que possui sensibilidade a luz, devendo ser pipetado no escuro.

#### - TIÓIS NÃO PROTEICOS (NPSH)

Para o procedimento de tióis não proteicos deve-se realizar a desproteíntização das amostras: Para desproteíntizar utiliza-se 10 uL de amostra + 150 ul de TCA 10%. Agitar em vórtex e centrifugar 10 minutos a 2.000 rpm. Para análise utiliza-se o sobrenadante.

<b>Amostra</b>	<b>TFK</b>	<b>DTNB</b>
40 µL	200 µL	20 µL

Realizar o procedimento em gelo.

Após pipetar o DTNB ler imediatamente em espectrofotômetro a 412 nm.

#### - TIÓIS PROTEICOS (PSH)

Sem desproteíntizar para o procedimento (plasma puo)

<b>Amostra</b>	<b>TFK</b>	<b>DTNB</b>
40 µL	200 µL	20 µL

Realizar o procedimento em gelo.

Após pipetar o DTNB ler imediatamente em espectrofotômetro a 412 nm.

#### **Referência (s) bibliográfica:**

ELLMAN, G L. Tissue sulphhydryl groups. **Archives of biochemistry and biophysics**, v.82, p. 70-77, 1959.

## ANEXO V

### PROTOCOLO PARA DETERMINAÇÃO DA ENZIMA MIELOPEROXIDASE

A MPO é uma heme enzima produzida por mediadores inflamatórios e liberada a partir de leucócitos no local da lesão, portanto a MPO reflete a ativação de ambos neutrófilos e linfócitos. A MPO catalisa a reação de íons de cloreto com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para gerar grandes quantidades de ácido hipocloroso (HOCl), uma espécie reativa de oxigênio que reage ainda mais para gerar oxigênio singlete e radical hidroxil.

**Princípio do método:** Na presença de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como agente oxidante, a MPO catalisa o acoplamento oxidativo de fenol e AAP originando um produto colorido, a quinoneimina, com uma absorvância máxima de 500nm.

**AMOSTRA:** Plasma colhido com EDTA A técnica pode ser realizada utilizando leucócitos totais como amostra, porém deve-se fazer a diluição 1:5 (30ul amostra + 150ul de PBS), uma vez que esta enzima apresenta-se em altas níveis nos leucócitos.

#### PREPARO DOS REAGENTES:

Todos os reagentes devem ser mantidos em geladeira. Preparar o AAP e o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no dia! O Fenol pode ser preparado antes e armazenado na geladeira.

#### **Fenol 20mM:**

94,11 – 1M - 1000mL

X -0,020M – 1000mL

X = 1,882 - 1000MI

0,376g de FENOL para 200mL de H<sub>2</sub>O destilada.

#### **AAP 2,5mM:**

Aminoantipirina – número 94 no armário enzitox

203,24g – 1000mM – 1000mL

X - 2,5mM-1000mL

X = 0,508g - 1000mL

0,1016g de AAP em 200mL de Fenol 20mM

Ajustar no balão volumétrico!

**H2O2 1,7mM:**

Adiciona-se 17ul de H2O2 1M em um balão de 10mL e completa-se o volume com H2O destilada.

**Pipetar em triplicatas:**

	<b>Tubos</b>	<b>Placa</b>
Plasma	30 $\mu$ L	12 $\mu$ L
AAP 25 mM	390 $\mu$ L	148 $\mu$ L
H2O2 1,7 mM	450 $\mu$ L	170 $\mu$ L

Obs: para o branco, substituir o plasma por água destilada.

Após adicionado o peróxido, o cronometro deve ser acionado e as amostras colocadas no banho para a incubação de 30min à 37 graus.

O branco também deve ser incubado.

A coloração final é rosa. As amostras são lidas em 492nm, utilizando cubeta de volume reduzido.

**Cálculo da atividade:**

Somente multiplica-se a absorbância pelo fator de correção da técnica, já estabelecido = 14. **Abs x 14**

Os resultados são expressos em micromolar de quinoneimina produzido em 30min.

**Referência (s) bibliográfica:**

Suzuki K, Ota H, Sasagawa S, Sakatani T, Fujikura T. Assay method for myeloperoxidase in human polymorphonuclear leukocytes. Anal Biochem. 1983 Jul 15;132(2):345-52. doi: 10.1016/0003-2697(83)90019-2.

**ANEXO VI**  
**PROTOCOLO PARA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA SUPERÓXIDO**  
**DISMUTASE**

**Amostra:** sangue citratado.

Para realização do experimento as amostras precisam ser normalizadas para 2mg/ml de proteína através da Técnica de Bradford.

**Técnica de Bradford**

**Preparo dos Reagentes:**

-Azul de Comassie (Brilliant Blue G Sigma): Pesar 0,1 g do Comassie, diluir com 50 mL de álcool etílico, acrescentar 100 mL de ácido ortofosfórico e ajustar o volume em balão volumétrico de 1000 mL com água destilada. Esse reagente deve agitar por 2 horas.

-Albumina Bovina: pesar 0,01g de albumina, diluir em 10 mL de Água destilada.

Curva Padrão:

	Branco	5	10	20	30	40
H2O Dest.	50	45 µL	40 µL	30 µL	20 µL	10 µL
Albumina	-----	5 µL	10 µL	20 µL	30 µL	40 µL

- Em cada tubo adicionar 2,5 mL de Comassie, depois pipetar 300 µL na microplaca.
  - Ligar o espectrofotômetro e ajustar o comprimento de onda para 595 nm
  - Zerar o espectrofotômetro com o Branco e a Curva, na sequência proceder o cálculo do fator de correção.  $FC = (m\u00e9dia\ abs - m\u00e9dia\ branco) / \text{concentra\u00e7\u00e3o de albumina}$
- FC precisa ficar entre 0,11-0,06

**Análise de Proteínas:**

- Antes de iniciar as análises identificar os tubos e filtrar o Comassie,

- Em cada tubo pipetar adicionar 2,5 mL de Azul de Comassie filtrado e 50  $\mu$ L da amostra diluída em PBS 10mM 7,2pH\*,

\*A diluição da amostra irá depender da doença/patologia e pode variar de paciente para paciente. Para a DRC foi utilizado 70  $\mu$ L de sangue em 930  $\mu$ L de PBS.

- Depois pipetar 300  $\mu$ L da amostra com Comassie na microplaca,

- Realizar leitura fotométrica (595nm).

- Para obter o resultado da concentração de proteínas deve-se aplicar o cálculo:

(Abs da amostra . FC)/0,05 (50  $\mu$ L) – Resultado deve ser aproximadamente 2,00 mg/ml

## PROTOCOLO SOD

Reagentes:

### **PBS: Tampão PBS (10 mM) pH 7,2**

Volume final de 200ml

- KCL 0,04g
- NaCl 1,6g
- Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 12 H<sub>2</sub>O 1,15g Dibásico – 95ml H<sub>2</sub>O
- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,28g Monobásico – 95 ML H<sub>2</sub>O

Colocar o Mono sobre o Di e ajustar o pH para 7,2

- **Água ácida:** 50 ml de água destilada, acrescentar aos poucos HCl (utilizar pipeta de pasteur), verificar no PHmetro o pH deve ficar em 2,00.

- **Adrenalina: Adrenalina (60mM] - FOTOSSENSÍVEL**

Pesar 0,02g de Adrenalina e acrescentar 1 ml de água ácida. Depois manter a solução protegida da luz e no gelo até o momento do uso.

Deve ser feita no momento do experimento e somente no volume necessário.

- **Glicina:** Diluir 0,375g em 100 ml de água destilada, o pH deve estar entre 10,5 a 10,8, se ficar ácido adiciona NaOH. A solução deve ser mantida em uma temperatura de 37°C em banho maria e a cada 4 leituras utilizando essa solução deve-se verificar o pH, pois tal solução pode se desestabilizar e alterar as leituras.

Procedimento experimental microplaca:

-Pipetar diferentes volumes de amostra normalizada (5-10-15-20-25);

-AO não vai amostra;

Paciente A			Paciente B			Paciente C			Paciente D		
AO	AO	AO	AO	AO	AO	AO	AO	AO	AO	AO	AO
5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
10 µL	10 µL	10 µL	10 µL	10 µL	10 µL	10 µL	10 µL	10 µL	10 µL	10 µL	10 µL
15 µL	15 µL	15 µL	15 µL	15 µL	15 µL	15 µL	15 µL	15 µL	15 µL	15 µL	15 µL
20 µL	20 µL	20 µL	20 µL	20 µL	20 µL	20 µL	20 µL	20 µL	20 µL	20 µL	20 µL
25 µL	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL

-Pipetar diferentes volumes de glicina dependendo da amostra:

AO 200 µL de glicina

5 µL amostra para 195 µL de glicina

10 µL amostra para 190 µL de glicina

15 µL amostra para 185 µL de glicina

20 µL amostra para 180 µL de glicina

25 µL amostra para 175 µL de glicina

-Realizar leitura fotométrica à 480nm salvar como inicial;

-Pipetar 15 µL de adrenalina\* em cada poço com a placa já no leitor, realizar pipetagem o mais rápido possível e no escuro.

\*O volume da adrenalina é variável dependendo da amostra, podendo ser de 5 µL à 20 µL.

-Ler absorbância no modo cinético (30 leituras a cada 15s) e salvar como final;



\*\*\*A leitura precisa formar uma curva para estar correto o experimento, caso isso não aconteça verificar todos os reagentes (pH, temperatura e níveis ) e/ou diluição das amostras\*\*\*

Cálculo:

1. Para cada ponto amostrado nos 10 min calcular:

$$\Delta = \text{ABS CINÉTICA} - \text{ABS BRANCO}$$

2. Para os valores de delta, verificar a linearidade da absorbância em função do tempo durante 2:30 min (2:00 – 4:30 min). Obs.: para isso seleciona-se todos os valores dos Ajunto com os tempos no modo de colunas (modo de exportar os dados), depois cria-se um gráfico de dispersão de linhas.

3. Para os valores dentro da linearidade, calcular a área sob a curva (utilizando o GraphPad-Prism5).

4. Calcular a média das áreas sob a curva da auto-oxidação

5. Expressar os valores das amostras em percentual em relação a auto-oxidação: %=média das áreas sob a curva das amostras/médias das áreas sob a curva da auto-oxidação.

6. Determinar a equação da reta para cada amostra (utilizar volumes distintos 5-20 ul) – criar gráfico de dispersão.

7. Calcular Vi50 para as amostras, utilizando a equação da reta. (Vi50 é o quanto de enzima necessária para inibir 50% da oxidação da adrenalina).

Configurar gráfico: inserir linha de tendência – exibir equação da reta – exibir valor de R2

Sendo a equação da reta:  $y=ax+b$ , o cálculo para isolar o x, seria:  $Vi50=(0,5-b)/a$

8. Anotar a concentração de proteína de cada amostra.

9. Calcular a atividade da SOD (Units. Mg protein -1):

$$\text{Units mg protein-1} = 1000 / Vi50 \cdot \text{concentração da proteína}$$

10. Calcular a média das atividades da SOD para as amostras.

**Referência (s) bibliográfica:**

J.M. Mc Cord, I. Fridovich, Superoxide dismutase: an enzymatic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein), J. Biol. Chem. 244 (1969) 6049-6055.



---

Emitido em 24/05/2022

**DISSERTAÇÃO Nº 47/2022 - PPGCB (10.41.13.10.05)**

**(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)**

*(Assinado digitalmente em 24/05/2022 09:42 )*

**CLADIS JULIANA LUTINSKI**

*TECNICO DE LABORATORIO AREA*

*CAPPG - CH (10.41.13.10)*

*Matrícula: 1879725*

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.uffs.edu.br/documentos/> informando seu número: **47**, ano: **2022**, tipo: **DISSERTAÇÃO**, data de emissão: **24/05/2022** e o código de verificação: **fb0001bbe9**