



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

CAMPUS DE CHAPECÓ

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

DANIELI DE CRISTO

**ATIVIDADE DAS ECTONUCLEOTIDASES EM LINFÓCITOS E PARÂMETROS
INFLAMATÓRIOS EM PACIENTES HEMODIALÍTICOS APÓS A REALIZAÇÃO
DE UM PROTOCOLO DE EXERCÍCIOS E AURICULOTERAPIA**

CHAPECÓ-SC

2024

DANIELI DE CRISTO

**ATIVIDADE DAS ECTONUCLEOTIDASES EM LINFÓCITOS E PARÂMETROS
INFLAMATÓRIOS EM PACIENTES HEMODIALÍTICOS APÓS A REALIZAÇÃO
DE UM PROTOCOLO DE EXERCÍCIOS E AURICULOTERAPIA**

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^a Dr^a Débora Tavares de Resende e Silva.

CHAPECÓ-SC

2024

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

Cristo, Danieli de
ATIVIDADE DAS ECTONUCLEOTIDASES EM LINFÓCITOS E
PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS EM PACIENTES HEMODIALÍTICOS
APÓS A REALIZAÇÃO DE UM PROTOCOLO DE EXERCÍCIOS E
AURICULOTERAPIA / Danieli de Cristo. -- 2024.
65 f.:il.

Orientadora: Doutora Débora Tavares de Resende e
Silva

Co-orientador: Doutor Rafael Luiz Pereira
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da
Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciências
Biomédicas, Chapecó, SC, 2024.

1. Doença Renal Crônica. 2. Auriculoterapia. 3.
Exercício Físico. 4. Sistema Purinérgico. I. Silva,
Débora Tavares de Resende e, orient. II. Pereira, Rafael
Luiz, co-orient. III. Universidade Federal da Fronteira
Sul. IV. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

DANIELI DE CRISTO

**ATIVIDADE DAS ECTONUCLEOTIDASES EM LINFÓCITOS E PARÂMETROS
INFLAMATÓRIOS EM PACIENTES HEMODIALÍTICOS QUE REALIZARAM
EXERCÍCIOS E AURICULOTERAPIA**

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 18/01/2024.

Aprovado em: 18/01/2014

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Débora Tavares de Resende e Silva - UFFS

Presidente da banca/orientador



Prof. Dr. Aline Manica - UNOCHAPECÓ

Membro titular externo

Prof. Dr. Andréia Machado Cardoso - UFFS

Membro titular interno

Prof. Dr. Leandro Manfredi - UFFS

Membro suplente

Chapecó/SC, 18 de Janeiro de 2024.

Dedico a todas as mulheres e mães que apesar dos desafios persistem na ciência e possibilitam que outras ingressem e realizem sonhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram para que esse sonho se tornasse realidade.

Em especial a Deus e minha família, que mesmo nos momentos mais difíceis seguiram me apoiando e foram incansáveis.

Meu esposo pelo amor, cuidado, compreensão e apoio incondicional, minha mãe pela doação e disponibilidade de estar conosco e principalmente, por ser o aconchego e amor para com o Heitor, que é quem dá sentido a minha vida desde que nasceu.

A minha orientadora Débora, por sempre me incentivar, compreender e ser um exemplo de que é possível tornar-se mãe e seguir na vida acadêmica e na pesquisa. Por fim, e igualmente essenciais, todas as pessoas do grupo de pesquisa que possibilitaram a conclusão desse trabalho, em especial a professora Sarah e todos os colegas que participaram do projeto, aplicação de protocolos e análises, Josiano, Angela, Keroli, Maria Eduarda e em nome deles, todos os demais. Gratidão.

RESUMO

A Auriculoterapia (AUR) e o Exercício Físico Resistido (EFR) são terapias de baixo custo e fácil aplicabilidade, podem proporcionar inúmeros benefícios aos pacientes com DRC, tanto no manejo quanto prognóstico e melhora na qualidade de vida dos indivíduos, e os estudos que utilizam estas terapias são escassos, o que evidencia a importância de mais estudos acerca desses tratamentos. Avaliamos o efeito da AUR e do EFR sobre a atividade das ectonucleotidases em linfócitos de 96 pacientes com doença renal crônica (DRC) em hemodiálise, divididos nos grupos: AUR, EFR e AUR+EFR. A atividade de NTPdase1, ecto5'nucleotidase, adenosina desaminase (ADA) em linfócitos e a quantificação de ATP e citocinas no soro dos pacientes foram analisadas antes e após as intervenções. Houve aumento da filtração glomerular (FG) nos pacientes dos grupos AUR ($p=0,0171$) e EFR ($p=0,0272$). O protocolo AUR promoveu aumento da hidrólise de ATP ($p=0,048$) nos linfócitos e redução na quantificação de ATP no soro dos pacientes. O grupo EFR apresentou redução na hidrólise de ATP ($p=0,0016$), ADP ($p = 0,001$) e AMP ($p = 0,004$) em linfócitos, redução dos níveis de interleucina 6 (IL6) ($p=0,040$) e maior atividade de ADA ($p=0,017$). Concluímos que a AUR promoveu alterações no sistema purinérgico dos indivíduos, com possíveis efeitos antiinflamatórios, enquanto a EFR promoveu alterações no sistema purinérgico que caracterizam efeitos pró-inflamatórios, antitrombóticos, anticoagulantes e cardioprotetores.

Palavras-Chave: Doença Renal Crônica. Auriculoterapia. Exercício Físico. Ectonucleotidases. Sistema Purinérgico.

ABSTRACT

Auriculotherapy (AUR) and RPE are low-cost and easy to apply therapies, they can provide numerous benefits to patients with CKD, both in management and prognosis and improvement in the quality of life of individuals, and studies using these therapies are scarce, which shows the importance of further studies on these treatments. We evaluated the effect of AUR and resistance physical exercise (RPE) on the activity of ectonucleotidases in lymphocytes of 96 patients with chronic kidney disease (CKD) on hemodialysis, divided into the groups: AUR, RPE and AUR+RPE. The activity of NTPdase1, ecto5'nucleotidase, adenosine deaminase (ADA) in lymphocytes and the quantification of ATP and cytokines in the patients' serum were analyzed before and after the interventions. There was an increase in glomerular filtration (GF) in patients in the AUR ($p=0.0171$) and RPE ($p=0.0272$) groups. The AUR protocol promoted an increase in ATP hydrolysis ($p=0.048$) in lymphocytes and a reduction in the quantification of ATP in the patients' serum. The RPE group showed a reduction in the hydrolysis of ATP ($p=0.0016$), ADP ($p = 0.001$) and AMP ($p = 0.004$) in lymphocytes, a reduction in interleukin 6 (IL6) levels ($p=0.040$) and greater activity of ADA ($p=0.017$). We concluded that AUR promoted changes in the individuals' purinergic system, with possible anti-inflammatory effects, while RPE promoted changes in the purinergic system that characterize pro-inflammatory, antithrombotic, anticoagulant and cardioprotective effects.

Key-Words: Auriculotherapy. Physical exercise. Ectonucleotidases. Purinergic System. Chronic Renal Failure.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ILUSTRAÇÃO 1 – Fluxograma de Execução do Estudo.....	35
ILUSTRAÇÃO 2 – Fluxograma de Grupos.....	35
ILUSTRAÇÃO 3 – Atividade CD39, CD73, ADA e Quantificação de ATP extracelular.....	47
ILUSTRAÇÃO 4 – Quantificação de citocinas (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ , TNF- α) antes e após aplicação dos protocolos	49

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Dados dos prontuários antes e após as intervenções.....	45
TABELA 2 – Correlação Spearman AUR.....	50
TABELA 3 – Correlação Spearman EFR.....	50
TABELA 4 – Correlação Spearman AUR+EFR.....	51

LISTA DE ABREVIATURAS

Ach – Acetilcolina

ADA – Adenosina Desaminase

Ado – Nucleosídeo adenosina

ADP – Difosfato de Adenosina

AMP – Monofosfato de Adenosina

ATP – Trifosfato de Adenosina

AUR – Auriculoterapia

CD39 – NTPDase-1

CD73 – Ecto-5'-nucleotidase

CSFs – Fatores estimuladores de colônias

DM – Diabetes Mellitus

DRC – Doença Renal Crônica

DRCt – DRC Terminal

EF – Exercício Físico

EFR – Exercício Físico de Resistência

FG – Filtração Glomerular

HA – Hipertensão Arterial

HIV – Vírus da imunodeficiência humana

IFN- γ – Interferon gama

IFNs – Interferons

IL- 5 – Interleucina 5

IL1 – Interleucina 1

IL-10 – Interleucina 10

IL-12 – Interleucina 12

IL-13 – Interleucina 13

IL18 – interleucina 18

IL1b – Interleucina 1 Beta

IL-2 – Interleucina 2

IL-4 – Interleucina 4

IL-6 – Interleucina 6

IRC – Insuficiencia renal crônica

IRC – Insuficiência Renal Crônica

PICs – Práticas Integrativas e Complementares

Pmp – Por milhão de população

SUS – Sistema Único de Saúde

TCLE – Termo de Consentimento Livre Esclarecido

TGFs – fatores transformadores de crescimento

Th 1 – T-helper 1

Th2 – T-helper 2

TNF – Fator de Necrose Tumoral alfa

TNF- β – Fator de necrose tumoral

TREG – Células T Reguladoras

TRS – Terapia Renal Substitutiva

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 JUSTIFICATIVA	19
1.2 OBJETIVOS	20
1.2.1 Objetivo Geral	20
1.2.2 Objetivos específicos	20
2 REVISÃO DA LITERATURA	22
2.1 DOENÇA RENAL CRÔNICA	22
2.2 HEMODIÁLISE.....	24
2.3 INFLAMAÇÃO	26
2.4 CITOCINAS.....	26
2.5 SISTEMA PURINÉRGICO	28
2.6 EXERCÍCIO FÍSICO	31
2.7 AURICULOTERAPIA.....	32
3 MATERIAIS E MÉTODOS	34
3.1 DESENHO DO ESTUDO	34
3.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	35
3.3 CRITÉRIOS ÉTICOS	36
3.4 PROTOCOLO DE EXERCÍCIO FÍSICO RESISTIDO	36
3.5 PROTOCOLO DE AURICULOTERAPIA	37
3.6 PROTOCOLO DE AURICULOTERAPIA + EXERCÍCIO FÍSICO RESISTIDO... 38	
4 COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO E PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS	40
4.1 COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS	40
4.2 DADOS DOS PRONTUÁRIOS	41
4.3 ENSAIOS ENZIMÁTICOS	42
4.3.1 Determinação da atividade da E-NTPDase 1 (CD39)	42

4.3.2 Determinação da atividade da E-5'-nucleotidase (CD73)	42
4.3.3 Determinação da atividade da ADA	43
4.3.4 Quantificação de ATP	43
4.3.5 Determinação de Proteínas	43
4.4 CITOMETRIA DE FLUXO	43
4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	44
5 RESULTADOS	45
6 DISCUSSÃO	53
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
REFERÊNCIAS	60

1 INTRODUÇÃO

A Doença Renal Crônica (DRC) é definida pela lesão do parênquima renal com função renal normal e/ou perda progressiva e irreversível da função dos rins por um período igual ou superior a três meses. Em sua fase mais avançada, conhecida como insuficiência renal crônica (IRC) ou DRC terminal (DRCt), os rins não conseguem manter a normalidade do meio interno do indivíduo (JUNIOR, 2004; BASTOS; BREGMAN; KIRSZTAJN, 2010; CAETANO et al., 2022). Pode ser secundária a um grupo heterogêneo de condições clínicas que, quando não controladas de forma adequada afetam a estrutura e a função renal, como a hipertensão arterial (HA) e o diabetes mellitus (DM) (DUNCAN, 2014). Está associada com elevada morbidade e mortalidade (VIANNA et al., 2011; WEBSTER et al., 2017).

Em relação ao diagnóstico da DRC, a taxa de filtração glomerular (FG) é a melhor medida do funcionamento renal em indivíduos normais ou pacientes com doença renal. O nível da FG varia com a idade, sexo e massa muscular. Idosos apresentam uma FG menor, decorrente da idade, portanto, idosos com níveis baixos de FG necessitam de maior cuidado no momento do diagnóstico, podem ser necessários ajustes nas medicações e pode indicar evolução não favorável da DRC. Verifica-se que níveis de FG menor que 60mL/min/1,73m² representam diminuição de cerca de 50% da função renal normal e aumenta a prevalência das complicações da DRC (BASTOS; BREGMAN; KIRSZTAJN, 2010; WEBSTER et al., 2017; CAETANO et al., 2022).

O diagnóstico da DRC pode se dar também, por meio da identificação de biomarcadores que sinalizam lesão do parênquima renal, como a proteinúria (albuminúria), anormalidades no sedimento urinário (principalmente hematúria e leucocitúria), alterações de parâmetros bioquímicos no sangue e na urina e alterações nos exames de imagem (BASTOS; BREGMAN; KIRSZTAJN, 2010; CAETANO et al., 2022).

A classificação da DRC é dividida em cinco estágios funcionais, baseado na FG (mL/min/1,73m²) sendo classificado como estágio I quando a FG > 90 com presença de proteinúria, estágio II quando a FG está entre 60 e 89 com a presença de proteinúria, estágio IIIa os níveis de FG apresentam-se entre 45-59, estágio IIIb a FG está entre 30-44, estágio IV

quando a FG está entre 15-29 e estágio V quando a FG é <15 ou o paciente já está realizando diálise (DUNCAN, 2014).

O tratamento da DRC evolui para a terapia renal substitutiva (TRS), que consiste em hemodiálise, diálise peritoneal e transplante. Os pacientes que se encontram no estágio V da DRC devem ser preparados com antecedência para iniciar a TRS, evitando-se procedimentos de urgência. Além da vacinação contra o vírus hepatite B, a família e o paciente devem receber suporte psicológico, social e devem ser discutidas as modalidades de tratamento, tipos de diálise ou transplante, para que a família decida junto com a equipe, a melhor forma de tratamento (BASTOS; BREGMAN; KIRSZTAJN, 2010; TAVARES et al., 2021).

A hemodiálise e a diálise peritonial tem por objetivos remover os resíduos tóxicos sanguíneos, remover o excesso de líquidos e manter o equilíbrio eletrolítico. Na ausência de contraindicações, a escolha do método para a TRS pode se basear na preferência do paciente, uma vez que não há evidências que apoiem a superioridade de um dos métodos quanto à sobrevivência do paciente. Em relação à hemodiálise, os pacientes devem ser submetidos à confecção de um acesso vascular permanente (fístula arteriovenosa), quando apresentarem FG inferior a 20 mL/min, levando em consideração a velocidade de progressão da DRC e procurando antecipar a necessidade de diálise em 4 a 6 meses (DUNCAN, 2014).

A DRC é considerada um problema de saúde pública mundial, sendo uma epidemia alarmante, já que afeta de 8% a 16% da população. A prevalência da DRC tem aumentado de forma considerável, e é maior na população idosa. No Brasil, a taxa de DRC cresceu 6,3% nos últimos anos, sendo que atualmente, estima-se que existam aproximadamente 130.000 pacientes em tratamento dialítico no país (THOMÉ, *et al.*, 2019; MÜLLER; PONCE, 2022; STUART et al., 2022;).

Sabe-se que o número de indivíduos com DRC no mundo está crescendo e que o maior potencial de crescimento encontra-se nos países em desenvolvimento e em populações com condições socioeconômicas inferiores. Desde o ano de 1990 apenas o número de mortes causada pela Síndrome da Imunodeficiência Humana, transmitida pelo vírus HIV aumentou de forma mais acelerada que o número de mortes por DRC. Em contrapartida, enquanto a estimativa de que o número de mortes por HIV diminuirá, as mortes por DRC seguem aumentando, com estimativa de atingir 14 pessoas a cada 100.000 até o ano de 2030 (WEBSTER et al., 2017).

No Brasil, não existem dados fidedignos sobre a prevalência da DRC não dialítica. Segundo dados do Sistema Único de Saúde (SUS), o número de pessoas que fazem diálise pelo período mínimo de três meses consecutivos vem aumentando consideravelmente, alcançando mais de 100.000 em 2010, sendo que 30% desses indivíduos têm mais de 65 anos. Em 2016, 122.825 portadores de DRC estavam em TRS, e a prevalência de DRC foi de 596 por milhão de população (pmp), com incidência de 193 pmp (AGUIAR et al., 2020).

As causas da DRC variam globalmente, destacam-se o DM, hipertensão arterial e nefropatias. O DM é responsável por 30-50% de todos os casos de DRC e afeta 285 milhões (6,4%) de adultos em todo o mundo (FILHO; BRITO, 2006; LUGON, 2009; DUNCAN, 2014; GOUVEIA et al., 2017; WEBSTER et al., 2017; AGUIAR et al., 2020;). Além disso, medicamentos fitoterápicos, utilização de substâncias tóxicas, altas dosagens de medicamentos ou ervas medicinais e interações medicamentosas, poluição da água por metais pesados e por pesticidas também estão sendo relacionados ao aumento da incidência de DRC e epidemias localizadas (WEBSTER et al., 2017).

Além das causas citadas anteriormente, a inflamação pode estar relacionada à fisiopatologia da DRC. Diversas citocinas e quimiocinas têm sido detectadas no plasma e urina de pacientes em estágios precoces da DRC e também relacionadas às complicações da doença. A expressão desses mediadores e a lesão renal sofrem interferência de fármacos, estatinas e antagonistas de receptores de citocinas. A modulação da resposta imuno-inflamatória pode se tornar alvo para tratamento da DRC (VIANNA et al., 2011).

Estudos têm demonstrado ainda, que a hemodinâmica renal, FG e função tubular estão relacionadas aos efeitos da sinalização purinérgica. Esse sistema possui diversos componentes como moléculas sinalizadoras, que são os nucleotídeos: trifosfato de adenosina (ATP), difosfato de adenosina (ADP) e monofosfato de adenosina (AMP) e o nucleosídeo adenosina (Ado), o receptor que reconhece essas moléculas, se liga e exerce suas funções; e as enzimas responsáveis pela geração, reconhecimento e degradação daquelas moléculas sinalizadoras. A sinalização purinérgica inclui as respostas celulares aos nucleotídeos e ao nucleosídeo de Ado, os quais agem como mensageiros extracelulares por meio de receptores específicos, atuando nos mecanismos fisiológicos dos sistemas, dentre esses, o sistema renal (BIZUTI; JOST; SILVA, 2019).

Os efeitos dos agonistas purinérgicos sobre os mecanismos de feedback tubuloglomerular e transporte tubular de água e solutos estão bem definidos. Além disso, a Ado e receptores específicos de ATP tem papel importante nos processos de doenças renais, com especial interesse na lesão de isquemia-reperusão, doença cística renal, doenças glomerulares e tubulointersticiais (JUNIOR., 2007). As células renais possuem ectonucleotidases, responsáveis pela hidrólise de nucleotídeos extracelulares, liberando citocinas e interagindo com receptores purinérgicos. Assim, a estimulação destas células pode acontecer concomitantemente a processos inflamatórios e anti-inflamatórios, pode ter relação com necrose e a apoptose celular (BIZUTI; JOST; SILVA, 2019).

Sabe-se ainda, que indivíduos com DRC apresentam baixa capacidade cardiopulmonar e funcional, associada a um risco maior de mortalidade, internações hospitalares e comorbidades. Conseqüentemente estes indivíduos estão expostos também a um aumento da morbidade e mortalidade como resultado de eventos cardiovasculares (SCHIFFRIN; LIPMAN; MANN, 2007).

Dentre as estratégias de prevenção e tratamento das DRC encontra-se o exercício físico (EF), trazendo inúmeros benefícios fisiológicos, como redução da pressão arterial, melhora da sensibilidade à insulina, melhora da função endotelial, redução da adiposidade visceral, uma diminuição na frequência cardíaca em repouso e diminuição das citocinas inflamatórias, entre outros (OLIVEIRA et al., 2020; LAVIE et al., 2015). O EF é capaz de reduzir em até 70% a inflamação, modulando o sistema imunológico por conta dos seus efeitos anti-inflamatórios atribuídos à sinalização purinérgica (CHAVES et al., 2019).

Entre as modalidades de EF o exercício físico de resistência (EFR) tem se mostrado uma boa alternativa para pacientes com DRC, apresentando alta adesão aos programas de treinamento (WATSON *et al.*, 2015). Ainda, o EFR é responsável por aumentar 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, sendo uma ferramenta útil para o manejo clínico desses pacientes (PUHLE, 2022).

Considerando práticas que podem ser adotadas no manejo de pacientes com DRC destaca-se a auriculoterapia, inserida nas Práticas Integrativas e Complementares (PICs) no contexto da Medicina Tradicional Chinesa. Esta terapia baseia-se na teoria de que o corpo humano está representado no pavilhão auricular. É classificado como um procedimento de

baixo custo, fácil aplicação e um método menos invasivo. O estímulo nos pontos energéticos localizados na orelha promove regulação psíquico-orgânica do indivíduo, por meio de estimulação mecânica nas áreas específicas correspondentes ao órgão-alvo ou sistemas que estejam em desequilíbrio e que se deseja tratar, desencadeando uma série de fenômenos que auxiliam no equilíbrio dos órgãos e sistemas (FRÓES et al., 2022).

Os estudos demonstram resultados positivos em vários aspectos, tanto na melhora clínica desses indivíduos com DRC, quanto na melhora de comorbidades comumente apresentadas por estes indivíduos, como dores crônicas, no manejo de DM, alergias e problemas osteomusculares. Tendo em vista o comprometimento físico e psicológico dos pacientes que se encontram em hemodiálise, a auriculoterapia auxilia na percepção de melhora dos pacientes, assim como na modulação do sistema imunológico (PUHLE, 2022).

Portanto, tanto o EFR quanto a auriculoterapia são estratégias que podem ser utilizadas em indivíduos com DRC dialíticos, sendo que esses pacientes podem se beneficiar de inúmeras formas, seja com melhora da capacidade cardiorrespiratória, melhora do sistema imunológico. São recursos acessíveis, de fácil aplicação, com resultados importantes para o manejo desses pacientes e melhora global do quadro. Com isso, esse estudo teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação de protocolos de tratamento de auriculoterapia e EFR em pacientes com DRC que estavam em tratamento dialítico.

1.1 JUSTIFICATIVA

A DRC é reconhecida como um sério problema de saúde pública a nível mundial, cada vez mais incidente e prevalente, acomete diferentes sistemas, ocasionando comprometimentos físicos e psicológicos e apresentando prognóstico não favorável. Frequentemente ocasiona outras patologias, leva a hospitalizações frequentes, o tratamento é de alto custo e envolve restrições no estilo de vida, alimentares, por vezes incapacidade laboral etc (TAVARES, 2021; RAZZERA, 2021; BORJA PEREZ-DOMINGUEZ et al., 2023).

Portanto, estratégias de manejo, diagnóstico precoce e tratamento da DRC e seus comprometimentos, que podem ir desde fraqueza muscular, redução da capacidade funcional,

dificuldade para realizar atividades de vida diária até ansiedade e depressão são extremamente importantes, a fim de promover manutenção do quadro, evitar agravamentos e nos casos em que já existem acometimentos, a melhora da funcionalidade e maior independência para realizar atividades de vida diária com consequente evolução na qualidade de vida desses indivíduos (BORJA PEREZ-DOMINGUEZ et al., 2023).

Estratégias como EFR e auriculoterapia tem se mostrado eficaz na melhora dos sintomas de ansiedade, depressão. Além disso, o EFR além de auxiliar nas questões emocionais, está relacionado à melhora funcional desses doentes, promovendo aumento da força muscular, capacidade funcional e maior independência nas atividades de vida diária (BORJA PEREZ-DOMINGUEZ et al., 2023).

Os estudos que utilizam estes tratamentos de forma isolada ou combinados em pacientes em tratamento dialítico são escassos e ao mesmo tempo, são extremamente necessários para que estratégias de tratamento intradialíticas baseadas na segurança e bem estar do paciente sejam cada vez mais aplicados em todo o País e no Mundo, considerando os inúmeros benefícios que proporcionam aos pacientes. Nosso grupo de pesquisa já vem estudando sobre os benefícios das PICS em pacientes hemodialíticos há alguns anos, bem como os efeitos do exercício físico nessa população, obtivemos resultados positivos em relação ao estresse oxidativo e qualidade de vida nessa população.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito da auriculoterapia e do EFR na atividade das ectonucleotidases em linfócitos, e correlacionar com parâmetros inflamatórios em pacientes com doença renal crônica em tratamento hemodialítico.

1.2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar a amostra quanto à idade, sexo e doença de base;
- Avaliar os marcadores bioquímicos de rotina dos pacientes em hemodiálise (TFG, Albumina, Creatinina, Glicose, Ureia) antes e após os tratamentos de auriculoterapia e EFR;
- Verificar a atividade das enzimas E-NTPDase1 (CD39), E-5'-Nucleotidase (CD73) e ADA em linfócitos de pacientes com DRC em tratamento hemodialítico antes e após aplicação dos protocolos de auriculoterapia e EFR;
- Analisar os níveis séricos de citocinas pró e anti-inflamatórias e de ATP antes e após aplicação dos protocolos de auriculoterapia e EFR;
- Correlacionar os parâmetros inflamatórios e bioquímicos;

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DOENÇA RENAL CRÔNICA

Os rins são responsáveis pela eliminação de toxinas do sangue, pela produção de eritropoetina (hormônio regulador da eritropoese), pela ativação da vitamina D, pelo controle do balanço hidroeletrolítico e ácido básico, pelo controle da pressão arterial, entre outras funções (DUNCAN, 2014). A DRC é uma síndrome causada por inúmeras doenças que têm em comum a redução progressiva da filtração glomerular (DUMMER; THOMÉ; VERONESE, 2007). Caracteriza-se por um estado de vasculopatia generalizada, evoluindo para perda progressiva e irreversível da função dos rins, (WEBSTER, et al., 2017; QIU et al., 2017) é reconhecida como um problema global de saúde pública (GLASSOCK & WINEARLS, 2008; WEBSTER, et al., 2017).

A disfunção renal avançada pode comprometer inúmeros sistemas ocasionando sintomas mais graves. O acometimento do sistema neurológico pode levar o indivíduo a ter sonolência, letargia, irritabilidade, tremores, câimbra, déficit cognitivo, soluço e fraqueza muscular. O acometimento do sistema gastrointestinal pode desencadear náusea, vômito, anorexia, hemorragia, hálito urêmico, diarreia e gastrite. Já no sistema cardiovascular a DRC pode ocasionar sintomatologia como a dispneia, arritmia, hipertensão, edema e tosse. Da mesma forma, no sistema endócrino, acidose metabólica, galactorreia, impotência, perda de peso, hiperuricemia, diminuição da libido e hipercalemia. No sistema hematológico podem ocorrer sangramentos e anemias. Enquanto que no sistema urinário nota-se oligúria e noctúria. (National Kidney Foundation, 2013; TAVARES et al., 2021). Além desses comprometimentos, apresenta prognóstico não favorável, com tratamentos de alto custo e restrições no estilo de vida e alimentares (RAZZERA et al., 2021).

À medida que diminui a FG ocorre aumento ou piora nos níveis pressóricos, níveis variados de retenção líquida, anemia, acidose metabólica, distúrbio mineral (hipocalcemia, hiperfosfatemia) e ósseo (hiperparatireoidismo secundário), desnutrição, alteração do metabolismo de cálcio e fósforo, que decorrem da perda da função renal, culminando com o quadro de síndrome urêmica e necessidade de iniciar terapia renal substitutiva, (COSTA-

HONG et al., 2009; BASTOS MG et al., 2010; DUNCAN, 2014; PRECOMA, DB et al., 2019).

Nos estágios iniciais, por sua vez, a maioria dos pacientes é assintomática ou apresenta sintomatologia decorrente da doença de base (p. ex., edema nos pacientes com glomerulopatia), e o diagnóstico da DRC pode iniciar pelo rastreamento de grupos de risco ou pela suspeita clínica feita durante o acompanhamento de outros problemas clínicos (WEBSTER, et al., 2017). Pacientes que apresentam HA, DM, doenças cardiovasculares e/ou familiares que tenham DRC estabelecida devem adotar medidas preventivas para o desenvolvimento de DRC, bem como realizar rastreamento de possíveis marcadores de lesão renal. Em relação ao diagnóstico, alguns marcadores são utilizados, a albumina na urina é o marcador de dano renal mais empregado na prática clínica, podem ser utilizados também exames indicativos de dano renal e os exames de imagem. A excreção urinária de albumina e a estimativa da FG, além de diagnosticar DRC, podem também definir categorias prognósticas de desfechos da DRC (DUNCAN, 2014).

Além disso, existem evidências de ativação do sistema imunológico e do sistema purinérgico em estágios precoces e tardios da DRC. Alguns estudos sugerem uma relação negativa entre níveis circulantes de mediadores de inflamação e o estágio da doença. Sabe-se também que, em pacientes portadores de DRC independente do estágio da doença, a presença de inflamação é um fator preditor de mortalidade. Acredita-se que a inflamação possa estar relacionada ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares e disfunções endoteliais importantes nos pacientes com DRC, culminando em pior desfecho, com maior morbidade e mortalidade (VIANNA et al., 2011).

Observa-se aumento da incidência e prevalência das DRC no Brasil, sendo considerada uma epidemia de crescimento alarmante (CESARINO, CB et al., 2013). Pacientes com DRC, em algum momento poderão necessitar de terapias para auxiliar nas funções renais básicas, as TRS são compostas pela diálise peritoneal, hemodiálise e transplante renal. Tanto a diálise quanto a hemodiálise utilizam membranas permeáveis para realização de remoção de líquidos e troca de solutos do paciente (HECHANOVA, 2019; FLEMING, 2011). Na fase pré-dialítica, tanto pacientes quanto familiares devem receber orientação sobre a TRS referente aos riscos e benefícios de cada modalidade. A TRS deve ser iniciada em indivíduos adultos não diabéticos com depuração de creatinina abaixo de 10

mL/min e em diabéticos abaixo de 15 mL/min. Em todos os casos, sinais e sintomas clínicos de uremia serão levados em conta para a indicação (DUNCAN, 2014).

No Brasil, mais de 100.000 pessoas são dependentes da TRS, sendo que 30% têm mais de 65 anos, dentre esses pacientes dependentes da TRS em torno de 90% dos pacientes estão em hemodiálise, sendo 85% desse tratamento financiado pelo SUS, com um gasto anual estimado em R\$ 2,2 bilhões (GOUVEIA et al., 2017).

Em pacientes com DRC em hemodiálise um fator preditor importante de mortalidade cardiovascular é a inflamação persistente e de baixo grau (AKCHURIN, KASKEL, 2015). Os mecanismos inflamatórios fazem parte da fisiopatologia da lesão renal, levando a progressiva fibrose glomerular e/ou túbulo-intersticial, lesão capilar peritubular por hipóxia e perda de funcionamento dos néfrons por esclerose glomerular e atrofia tubular, independentemente do mecanismo primário que desencadeou a lesão renal (VIANNA et al., 2011).

As causas de inflamação em pacientes com DRC diferem entre os pacientes em estágios pré-dialíticos, e os que estão em TRS. Enquanto que os pacientes que ainda não realizam TRS apresentam as causas da inflamação relacionadas às patologias de base ou a própria doença renal, fatores de estilo de vida, predisposição genética, e estado da uremia, os pacientes em TRS apresentam também fatores relacionados à diálise como causa da inflamação, entre eles o uso de cateteres para acesso periférico, baixa biocompatibilidade da membrana dialisadora, contaminação da solução de diálise, exposição de endotoxinas, peritonite e infecção de cateter em diálise peritoneal podem promover uma resposta inflamatória persistente em baixo grau. A alta prevalência de inflamação nesses pacientes se reflete em elevados níveis de proteínas de fase aguda tais como a Proteína C Reativa e outros mediadores inflamatórios (BRITO, 2019).

2.2 HEMODIÁLISE

Uma das alternativas mais eficazes para o tratamento de insuficiência renal é a hemodiálise. 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.

Para resultados satisfatórios, a hemodiálise deve estar associada a tratamento medicamentoso, dietético e hídrico. A não adesão a um desses componentes do tratamento pode agravar a condição clínica do paciente e está associada ao aumento da hospitalização e mortalidade (SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA, 2020; PEREIRA; LEITE, 2022).

O tempo de hemodiálise pode variar de acordo com as necessidades de cada paciente, entre 3 a 5 horas, duas, três, quatro vezes na semana, ou ainda, diariamente. O médico nefrologista avaliará o paciente para que seja escolhida a melhor forma de tratamento para o mesmo (SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA, 2020). O esquema de hemodiálise convencional e mais utilizado consiste na remoção de 1 a 4 litros de fluido em aproximadamente 4 horas, três vezes na semana. Esse processo ainda está associado a muitas complicações, tanto agudas quanto crônicas, e a altas taxas de hospitalização e mortalidade (MATOS; LOPES, 2009).

O processo de hemodiálise consiste em passar o sangue do paciente por meio de um acesso vascular, ou fístula arteriovenosa para a máquina, onde o sangue é impulsionado por uma bomba, até o filtro, exposto a uma solução e por meio de uma membrana semipermeável vai ser retirado o líquido e as toxinas em excesso, buscando o equilíbrio hidroeletrólítico e devolvendo o sangue limpo para o paciente, pelo acesso vascular (SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA, 2020).

Como já foi descrito, a hemodiálise pode substituir a função renal de indivíduos com DRC, porém, não consegue substituir totalmente, o rim atua de diversas formas, e não somente como filtro de sangue. São responsáveis pelo controle de água corporal, sais minerais, ácidos (pH), pressão arterial e na síntese de hormônios que estimulam a produção sanguínea e controle da mineralização óssea. Dessa forma, para o sucesso do tratamento é necessário seguir as recomendações dietéticas e de ingestão hídrica que a equipe elaborou (SGNAOLIN; FIGUEIREDO, 2012; SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA, 2020).

2.3 INFLAMAÇÃO

A inflamação está relacionada à patogênese, progressão e prognóstico de inúmeras doenças crônicas, dentre as quais a DRC. Estudos tem sugerido que o tratamento anti-inflamatório pode reduzir eventos cardiovasculares, responsáveis pela alta taxa de mortalidade de indivíduos com DRC em tratamento hemodialítico. Além disso, o estado inflamatório persistente e de baixo grau verificado nesses pacientes está relacionado ao processo de envelhecimento altamente acelerado, caracterizado por doença vascular, sarcopenia, e outras doenças e com isso se correlaciona ao prognóstico desses indivíduos (EBERT et al., 2020).

A fisiopatologia da inflamação na DRC está relacionada à perda da função renal, em decorrência do acúmulo de substâncias nitrogenadas no sangue, sendo que normalmente essas substâncias seriam excretadas pela urina, mas nos indivíduos com DRC as concentrações vão aumentando progressivamente e passam a exercer efeitos tóxicos, quando se tornam aparentes são classificados como sintomas da uremia, ou inflamação urêmica e podem incluir mecanismos de imunoativação e imunossupressão. Ocorre a ativação anormal do sistema imunológico inato, especialmente monócitos e aumento da síntese de citocinas pró-inflamatórias, como as interleucinas (IL) -1, IL-6 e fator de necrose tumoral (TNF). Ocorre ainda, uma regulação negativa e função reduzida do sistema imunológico adaptativo, particularmente dos linfócitos T e B, durante a inflamação urêmica (VIANNA et al., 2011; EBERT et al., 2020;).

2.4 CITOCINAS

As citocinas são proteínas de baixo peso molecular com diversas funções metabólicas e endócrinas que participam da inflamação e resposta do sistema imunológico. São secretadas por uma variedade de células (linfócitos, macrófagos, células natural killer, mastócitos e células estromais). Uma única citocina pode ser secretada por diferentes tipos de células e pode atuar em vários tipos de células, produzindo múltiplas atividades biológicas. A variação nos níveis de citocinas em vários fluidos biológicos, como soro, sangue, fezes, saliva e suor,

forneem informações valiosas sobre o diagnóstico, estágio e prognóstico de várias doenças (VIANNA et al., 2011; LIU et al., 2021).

As citocinas podem ser classificadas em diversas categorias, incluindo TNFs, IL, linfocinas, monocinas, interferons (IFNs), fatores estimuladores de colônias (CSFs) e fatores transformadores de crescimento (TGFs). Com base na sua fonte celular, as citocinas são classificadas em citocinas do tipo 1, produzidas pelo agrupamento de células de diferenciação 4 (CD4)⁺ T-helper 1 (T_h 1), incluindo IL-2, IL-12, IFN- γ e TNF- β e citocinas tipo 2, produzidas por células CD4⁺ Th2, incluindo IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13. Dependendo do seu papel, as citocinas também podem ser classificadas como pró-inflamatórias ou anti-inflamatórias (VIANNA et al., 2011; LIU et al., 2021).

Níveis anormais de citocinas podem causar tempestade de citocinas e doenças. Consequentemente, a quantificação de citocinas é valiosa para o diagnóstico e tratamento de doenças (Liu C. et al., 2021). Existem evidências clínicas e experimentais que descrevem a participação de citocinas e quimiocinas em diferentes mecanismos de lesão ao tecido renal. Nos rins, as citocinas induzem proliferação local de células tubulares e intersticiais, síntese de matriz extracelular, atividade pró-coagulante do endotélio, formação de espécies reativas de oxigênio e aumento da expressão de moléculas de adesão e lípidos biologicamente ativos. A liberação de citocinas também se relaciona aos efeitos hemodinâmicos e locais da ativação do sistema renina angiotensina (SRA) (VIANNA et al., 2011; MERINI et al., 2012; LIU et al., 2021).

Os níveis de citocinas são utilizados como biomarcadores para avaliar distúrbios clínicos. Sua quantificação precisa oferece informações importantes para monitorar o estado imunológico dos pacientes e para ajustar terapias de diferentes doenças, incluindo lesão renal e doenças cardíacas (LIU et al., 2021). Contudo, a detecção precisa das citocinas ainda é um desafio, entre os dificultadores destaca-se a meia-vida curta e os processos de secreção dinâmicos. Uma de suas funções consiste em modulação de processos imunológicos, sendo assim, formam redes complexas, e podem no mesmo processo biológico exercer funções diferentes, tendo influência antagônica, sinérgica ou aditiva. Devido à extrema complexidade da rede, medir as citocinas em tempo real durante a sua ação no meio microcelular circundante continua a ser um desafio (LIU et al., 2021).

As citocinas IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α e interferons são descritas pró-inflamatórias, agindo nas reações inflamatórias e estimulando células do sistema imunológico, contribuindo para o início e propagação de inflamação autoimune. Enquanto que IL-4, IL-6, IL-10, IL-11, IL-13, antagonista do receptor de IL-1 (IL-1RA) e TGF- β , inibem a inflamação e suprimem as células do sistema imunológico possibilitando a recuperação das fases agudas da doença autoimune. Ainda, é importante destacar que uma única citocina pode ser secretada por células diferentes e ter atividades pró-inflamatórias ou anti-inflamatórias dependendo do contexto, gerando múltiplas respostas imunes, a IL6 por exemplo, pode apresentar-se de forma pró e anti-inflamatória (LIU et al., 2021).

2.5 SISTEMA PURINÉRGICO

Desde 1929 se pesquisa sobre as purinas e suas funções extracelulares. A neurotransmissão purinérgica foi descrita em 1972, e os receptores purinérgicos em 1978, e o conceito de um sistema de sinalização purinérgica foi descrito pelo professor Geoffrey Burnstock. Atualmente compreende-se que o sistema purinérgico consiste em uma rede de sinalização entre as células, sendo uma via moduladora de inúmeros processos fisiológicos, dentre esses a resposta inflamatória e imunológica, agem na neurotransmissão e neuroproteção, tem relação com o processo de dor, agregação plaquetária, tromborregulação, na vasodilatação mediada pelo endotélio, proliferação e morte celular (BURNSTOCK, 1972; 2006; MARAFON, 2018; CARDOSO; MANFREDI; MACIEL, 2021).

As biomoléculas desse sistema são os nucleotídeos de adenina, agem como sinalizadores extracelulares e são o ATP, ADP e AMP, e seu derivado o nucleosídeo adenosina, esses, se ligam a receptores do grupo P1 e P2 para exercer sua atividade. A função destas é regulada por ectoenzimas, entre as quais ectonucleotidases E-NPP, E-NTPDases, ecto-5'-nucleotidase e fosfatases alcalinas, e ainda, adenosina desaminase (ADA). Essas ectonucleotidases são compostas por um grupo de enzimas que se localizam na membrana celular. Seu sítio ativo está voltado para o meio extracelular, pode ser encontrada também no meio intersticial, em forma solúvel (MARAFON, 2018; CARDOSO; MANFREDI; MACIEL, 2021).

As E-NTPDases compreendem 8 componentes, os quais hidrolisam tanto ATP quanto ADP, sendo que alguns subtipos apresentam preferências individuais. Da mesma forma, são encontrados em vários locais diferentes, e alguns subtipos mais predominantes em órgãos específicos, mas no geral, são situados no coração, placenta, pulmões, fígado, músculos esqueléticos, timo, rim, pâncreas, regiões do sistema reprodutor, e cérebro, alguns subtipos apresentam predominância em determinados órgãos ou tecidos do organismo. Suas funções incluem o controle dos linfócitos, reconhecimento dos antígenos, ativação de funções efetoras das células T citotóxicas, e geração de sinais que aumentam as interações célula-célula. A NTPDase1/(CD39) é a enzima que tem mais afinidade pelo ATP, contudo hidrolisa o produto ADP para AMP na mesma proporção. A família das NTPDases também difere entre si na sua localização tecidual. A NTPDase1/(CD39) está localizada principalmente nas células de resposta imune, por exemplo, linfócitos, monócitos, células endoteliais dos vasos sanguíneos e SNC. (MARAFFON, 2018, CARDOSO; MANFREDI; MACIEL, 2021).

A ecto-5'-nucleotidase/(CD73) hidrolisa ribo e desoxiribonucleotídeos 5'-monofosfatos em seus respectivos nucleosídeos, mas se caracteriza por realizar a hidrólise do AMP à adenosina, principalmente (CARDOSO; MANFREDI; MACIEL, 2021).

A ectoenzima com maior expressão na superfície de células T reguladoras (Treg) e com alta atividade catalítica quando ligado aos receptores de células T é a NTPDase-1/(CD39), ela regula os níveis de ATP, quando este é liberado no espaço extracelular e se liga a receptores P2, em resposta a um dano celular e/ou tecidual. A ecto-5'-nucleotidase/(CD73) tem função sinalizadora e atua nos processos de adesão célula-célula e célula-matriz, está associada à maturação e ativação dos linfócitos, e sua expressão à resistência de algumas linhagens de células tumorais a agentes quimioterapêuticos. Juntamente com as NTPDases atua na neurotransmissão em diferentes doenças, com o objetivo de reduzir os níveis de ATP e aumentar os níveis de Ado no meio (MARAFFON, 2018; BECKER et al., 2019).

A conversão da Ado em inosina é catalisada pela enzima ADA, que possui duas isoformas em humanos e pertence à família das hidrolases dependentes de zinco, pode modular a função dos linfócitos, desempenhando também importante papel no desenvolvimento de tecidos, e na função das plaquetas, devido a sua interferência no processo de angiogênese e agregação plaquetária (COSTA, 2019).

Nas células do sistema imunológico, especificamente nos linfócitos, a Ado no espaço extracelular pode atuar como mediador de sinalização para muitos efeitos fisiológicos em múltiplos órgãos e apresenta ação anti-inflamatória, enquanto que o ATP extracelular sinaliza lesão tecidual e exerce papel inflamatório (REGATEIRO; COBBOLD; WALDMANN, 2012).

As ectoenzimas NTPDase-1/(CD39) e ecto-5'-nucleotidase/(CD73) podem desfosforilar o ATP extracelular produzindo Ado, regulando os níveis de Ado e ATP no espaço extracelular, controlando esta importante via de modulação imune. Apesar de seus papéis estabelecidos no sistema imunológico, pouco se sabe sobre como CD39 e CD73 são regulados. Sabe-se ainda, que CD39 degrada o ATP extracelular em AMP, fornecendo assim o substrato para a conversão do CD73 de AMP em Ado. Por sua vez, o CD73 é uma glicoproteína ligada à membrana com capacidade enzimática para catalisar a desfosforilação de monofosfatos de nucleosídeos extracelulares em nucleosídeos, com AMP como o substrato preferencial para Ado. As ações de CD39 e CD73 reduzem a inflamação removendo ATP e também gerando Ado anti-inflamatória (REGATEIRO; COBBOLD; WALDMANN, 2012).

Além dos mecanismos já citados, o sistema purinérgico atua na modulação da inflamação e do sistema imunológico também por meio da ativação de linfócitos e liberação de citocinas pró e anti-inflamatórias que estão relacionadas às alterações de concentrações de nucleotídeos e nucleosídeos circulantes extracelulares, como o ATP e Ado, assim como a acetilcolina (ACh). O ATP liberado pode estimular respostas inflamatórias, enquanto que a ACh tem ação anti-inflamatória. A eficácia desses sistemas depende de enzimas expressas nas membranas de células imunológicas. Quando há a liberação de ATP no espaço extracelular, rapidamente é hidrolisada em ADP e AMP pelas E-NTPDases. A ecto-5'-nucleotidase (CD73) converte o AMP em Ado, que será degradada em inosina pela ADA. A disponibilidade de ACh é dependente da atividade da enzima AChE. Portanto, a rede de enzimas purinérgicas e colinérgicas tem um papel central nas respostas imunes controlando os efeitos pró e anti-inflamatórios de moléculas como ATP, Ado e ACh (VIEIRA et al., 2018).

2.6 EXERCÍCIO FÍSICO

O EF vem sendo utilizado como estratégia de prevenção, manejo e tratamento de doenças crônicas, e torna-se cada vez mais essencial, pois apresenta impacto positivo no prognóstico. É definido como um subconjunto de atividades estruturadas, que visa melhora da aptidão cardiorrespiratória, equilíbrio, flexibilidade, força e até mesmo da função cognitiva. Existe uma forte associação entre aptidão física com mortalidade por todas as causas e com a ocorrência de eventos cardiovasculares desfavoráveis, com associação inversa, ou seja, quanto menor a aptidão física maior a mortalidade. Quanto maior a aptidão física aeróbica, menor o risco de morbimortalidade total e cardiovascular (PRÉCOMA et al., 2019).

Os efeitos do exercício vão desde melhora do condicionamento cardiovascular, força e resistência muscular até redução da inflamação e níveis de pressão arterial entre outros. Nos pacientes que apresentam doenças renais o exercício apresenta um papel fundamental, independente da gravidade da lesão renal. Apesar disso, o tratamento utilizando exercício físico ainda é negligenciado nesses indivíduos (WILKINSON; SHUR; SMITH, 2016; PRÉCOMA et al., 2019).

Para os indivíduos com DRC provavelmente o efeito mais benéfico do EF é a melhora da capacidade cardiorrespiratória e função vascular. Estudos mostram que pacientes em pré-diálise e diálise apresentam redução da pressão arterial sistólica e diastólica em até 1h após o exercício aeróbico, observa-se também redução do número de antihipertensivos utilizados, redução da rigidez e melhora da complacência arterial durante a diálise. Em pacientes pré-diálise, o exercício tanto agudo quanto e crônico proporciona efeito antiinflamatório (WILKINSON; SHUR; SMITH, 2016; QIU et al., 2017). Além disso, o exercício físico por meio dos benefícios já citados proporciona melhora na qualidade de vida desses indivíduos e aumenta a sobrevida por prevenir e tratar doenças cardiovasculares, que são consideradas a principal causa de mortalidade entre os pacientes com DRC (QIU et al., 2017).

Em relação à modalidade de exercício que pode ser realizada por esses indivíduos com DRC não há consenso na literatura, alguns estudos sugerem que o exercício regular, independente da modalidade, duração ou intensidade é benéfico para esses indivíduos. Além disso, modalidades que possam ser realizadas intradialíticas são importantes, e podem facilitar o acesso desses indivíduos ao exercício, melhorando a adesão ao treinamento (WILKINSON; SHUR; SMITH, 2016).

Nesse sentido, dentre os diferentes tipos de exercício, o EFR tem demonstrado uma boa alternativa para pacientes com DRC, apresentam alta adesão aos programas de treinamento, baixo custo e necessitam de pouco espaço para serem realizados, podendo ser realizados em unidades de diálise/hemodiálise (WATSON *et al.*, 2015). O EFR é descrito como a combinação de contrações estáticas e dinâmicas envolvendo a contração e distensão dos músculos esqueléticos contra uma resistência externa. Pode ser realizado com pesos livres (halteres e barras), peso corporal, elásticos, molas, máquinas, entre outros (FARIA *et al.*, 2020).

2.7 AURICULOTERAPIA

A teoria das terapias reflexas, a qual inclui a auriculoterapia, se baseia na hipótese embriológica e inervações. A orelha dos mamíferos é uma estrutura complexa, uma das únicas que contempla todos os tecidos primários existentes no embrião, além disso, apresenta uma forte inervação, fortalecendo a hipótese da representação do corpo humano nessa estrutura, chamada de reflexologia auricular (VIEIRA *et al.*, 2018).

A auriculoterapia é um complemento da acupuntura tradicional e nos últimos 60 anos se desenvolveu em um sistema de tratamento distinto e próprio. Seu mecanismo de ação inclui a estimulação mecânica de áreas específicas do pavilhão auricular, uma vez que as orelhas possuem pontos reflexos que correspondem a todos os órgãos e funções corporais. A estimulação desses pontos desencadeia uma série de fenômenos no cérebro que auxiliam no processo de cura (FRÓES *et al.*, 2022).

Na orelha, os pontos auriculares podem ser estimulados de diferentes formas, com agulhas (acupuntura auricular); sementes, sondas ou dedos (acupressão); unidades elétricas fixadas em agulhas auriculares (estimulação elétrica nervosa percutânea) ou diretamente na pele (TENS – estimulação elétrica nervosa transdérmica ou eletroacupuntura auricular); ou laser; todas podem ser consideradas formas de auriculoterapia (ASHER *et al.*, 2010). Contudo, os materiais mais utilizados são as agulhas semipermanentes e as sementes de mostarda, que são fixadas na orelha por meio de adesivos, geralmente por um período mínimo de quatro dias, até o máximo de uma semana (SILVA; ARAÚJO; GUERINO, 2021).

A auriculoterapia tem sido apontada como um método promissor para tratar condições físicas e psicológicas, como abuso de substâncias, obesidade, ansiedade, epilepsia, distúrbios do sono, alívio da dor em casos como lombalgia, osteoartrite e cefaleia, ainda, estudos apontam resultados benéficos na redução da dor associada ao câncer, artroscopia de joelho, fratura de quadril e artroplastia de quadril. A depender da estimulação, é possível reduzir os processos inflamatórios por meio da liberação de substâncias anti-inflamatórias como a interleucina (IL) -10 durante a aplicação da auriculoterapia (ASHER et al., 2010; VIEIRA et al., 2018; FRÓES et al., 2022; PUHLE, 2022).

Somando-se a esses achados, outros estudos descrevem elevação dos níveis de interferon (IFN) gama, IL-2, IL-4 e IL-6 após aplicação de acupuntura auricular, enquanto marcadores como o fator de necrose tumoral (TNF) alfa apresenta redução, Assim temos equilíbrio entre citocinas pró-inflamatórias e citocinas anti-inflamatórias (PUHLE, 2022).

Sendo assim, pacientes com DRC podem se beneficiar das técnicas da auriculoterapia com objetivo de redução de dores, redução de ansiedade e redução da inflamação, bem como auxiliar no tratamento de outras comorbidades que possam apresentar. Contudo, estudos precisam ser realizados para evidenciar a eficácia e segurança da técnica.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 DESENHO DO ESTUDO

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 a demanda e interesse voluntário pelos tratamentos ofertados durante a pesquisa. Eles foram divididos em três grupos homogêneos, por conveniência, conforme o horário de realização da hemodiálise, seguindo todos os critérios de inclusão e exclusão estabelecidos.

Os pacientes recrutados foram distribuídos em 3 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 (EFR);
- Os pacientes do segundo turno (10h) fizeram parte do Grupo Auriculoterapia+Exercício Físico Resistido (AUR+EFR);
- Os pacientes do terceiro turno (14h30min) fizeram parte do Grupo Auriculoterapia (AUR);

Ilustração 1 – Fluxograma de Execução do Estudo

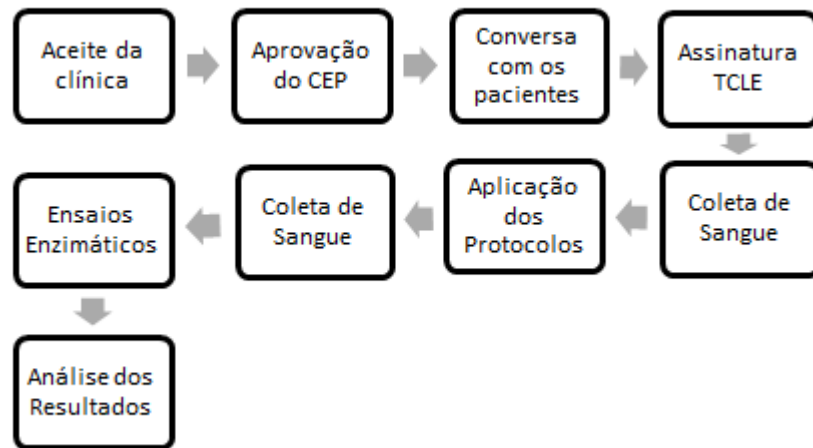
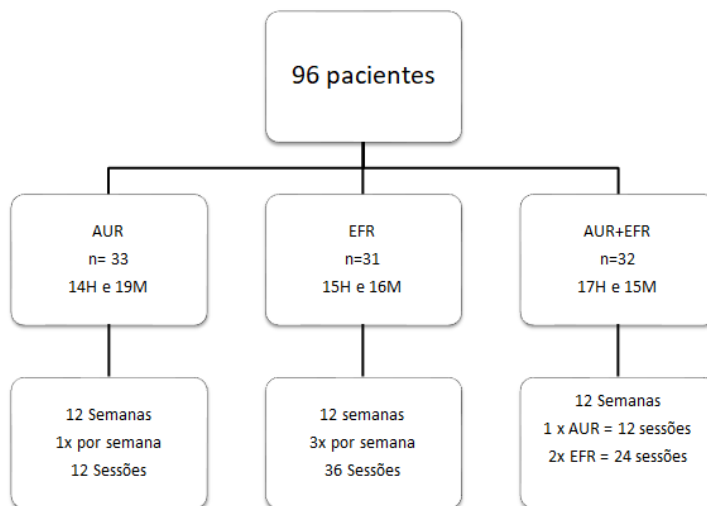


Ilustração 2 – Fluxograma de Grupos



3.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram incluídos indivíduos de:

- Ambos os sexos;
- Idade > 18 anos;
- Diagnóstico de DRC, em tratamento hemodialítico há, no mínimo, 6 meses.

Foram excluídos:

- Os que vieram a óbito ou desistiram da participação.
- Aqueles que realizavam EF e/ou AUR fora da pesquisa.
- Os pacientes que apresentaram adesão menor que 75% do total de sessões do programa de EF e/ou AUR.

3.3 CRITÉRIOS ÉTICOS

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal da Fronteira Sul (CAAE - 42603621.20000.5564). O estudo foi registrado retrospectivamente sob o número U1111-1286-1013. 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 termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) foi apresentado e assinado pelos voluntários que aceitaram participar do estudo.

3.4 PROTOCOLO DE EFR

O programa de EFR foi executado e supervisionado por um Profissional de Educação Física e por uma Fisioterapeuta. As sessões de EF foram realizadas em posição sentada e/ou deitada, em uma cadeira padrão de hemodiálise, 3 vezes por semana durante 12 semanas, totalizando 36 sessões. O EF foi realizado 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 EFR 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:

1. Extensão do joelho e posterior retorno (flexão) para a posição inicial;
2. Flexão do quadril e posterior retorno (extensão) para a posição inicial;
3. Abdução do quadril e posterior retorno (adução) para a posição inicial;
4. Rotação medial do quadril e posterior retorno (rotação medial) para a posição inicial;
5. Flexão do cotovelo e posterior retorno (extensão) para a posição inicial;
6. Extensão do cotovelo e posterior retorno (flexão) para a posição inicial;
7. Elevação da escápula e posterior retorno (depressão) para a posição inicial;
8. Abdução do ombro e posterior retorno (adução) para a posição inicial.

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.

3.5 PROTOCOLO DE AURICULOTERAPIA

A intervenção foi realizada e supervisionada por um Profissional de Educação Física especialista em Acupuntura e com formação em AUR, 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, báculo, uretra e relaxamento muscular (LOPES; SULIANO, 2020).

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

3.6 PROTOCOLO DE AUR+EFR

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, báculo, uretra e relaxamento muscular (LOPES; SULIANO, 2020).

Simultaneamente à AUR, esse grupo foi submetido a 2 sessões por semana de EFR 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 EFR 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:

1. Extensão do joelho e posterior retorno (flexão) para a posição inicial;
2. Flexão do quadril e posterior retorno (extensão) para a posição inicial;
3. Abdução do quadril e posterior retorno (adução) para a posição inicial;
4. Rotação medial do quadril e posterior retorno (rotação medial) para a posição inicial;
5. Flexão do cotovelo e posterior retorno (extensão) para a posição inicial;
6. Extensão do cotovelo e posterior retorno (flexão) para a posição inicial;
7. Elevação da escápula e posterior retorno (depressão) para a posição inicial;
8. Abdução do ombro e posterior retorno (adução) para a posição inicial.

A adesão ao programa de AUR+EFR 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.

4 COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO E PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

4.1 COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Os produtos químicos que foram utilizados estão descritos a seguir. Os nucleotídeos e a base Trizma eram da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). O Ficoll-Histopaque (Lymphoprep™) foi adquirido à Nycomed Pharma (Oslo, Noruega). Todos os reagentes utilizados nas separações e análises foram puros analíticos (PA). A água utilizada no preparo das soluções e diluições das amostras foi sempre ultrapura (MilliQ) ou deionizada.

As amostras de sangue dos pacientes foram obtidas uma semana antes do início dos protocolos e uma semana após o término dos protocolos, antes do início da sessão de hemodiálise, em tubos Vacutainer® contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) com anticoagulante (1,0mg/mL). Tubos Vacutainer® com gel separador e ativador de coágulos. Tubos Plus Vacutainer® contendo 3,2% de citrato de sódio. Após a coleta, os tubos contendo EDTA e os contendo gel ativador e separador de coágulos foram centrifugados a 3.000 rotações por minuto (rpm) por 15 minutos, a 4°C, para obtenção de plasma e soro, respectivamente. Tubos de citrato de sódio a 3,2% foram utilizados para obtenção de sangue total. Posteriormente, 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 armazenados a -80°C para posterior análise.

Isolamento de células mononucleares do sangue humano: Após a separação do plasma, a camada leucocitária contendo os glóbulos brancos, colocada entre a camada de plasma e os eritrócitos, foi cuidadosamente removida. O material foi colocado em tubo cônico e diluído em igual volume de solução salina. Posteriormente, a amostra diluída foi transferida para um tubo cônico contendo Lymphoprep (Ficol-Histopaque), seguido de centrifugação a 1.800 rpm, em temperatura ambiente, por 30 minutos. Após centrifugação, formou-se um gradiente de densidade. Desta forma, houve a formação de uma camada intermediária composta por células mononucleares (linfócitos e monócitos) entre as camadas de plasma e Ficol. Esta nuvem de células foi cuidadosamente removida com uma pipeta Pasteur sobre a camada superior (plasma) e transferida para um tubo cônico limpo. Sobre as células foram

adicionados 10 ml de solução salina seguida de centrifugação por 10 minutos a 1500 rpm. Em seguida, descartamos o sobrenadante e adicionamos 5 ml de solução salina para lavar completamente as células e retirar as plaquetas. Se necessário, tampão hemolítico EDTA-cloreto de amônio seria adicionado para remover glóbulos vermelhos. Assim, obteve-se um concentrado de linfócitos, que foi diluído e homogeneizado em 300 ul de solução salina e acondicionado em tubos eppendorfs® de polipropileno de 1,5mL e conservado a -80 graus para posterior análise.

Para obtenção do soro, o sangue total dos tubos sem anticoagulante foi centrifugado por 15 minutos a 3.500 rpm. Após isso, o sobrenadante foi retirado e armazenado. Em ambos os processos o conteúdo final é aliquoteado em eppendorfs, identificados com os códigos de cada paciente e depois foram alocados em caixas de papel também identificadas e levados ao ultra-freezer em uma temperatura de - 80°C onde ficaram armazenados até o dia das análises.

4.2 DADOS DOS PRONTUÁRIOS

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, esses dados ficam armazenados nos prontuários dos pacientes.

Foram utilizados os dados dos prontuários dos pacientes referente aos resultados dos exames bioquímicos mensais, a saber: FG, Albumina, Creatinina, Glicose, Uréia antes e após as intervenções realizadas na presente pesquisa.

4.3 ENSAIOS ENZIMÁTICOS

4.3.1 Determinação da atividade da E-NTPDase1 (CD39)

Após o isolamento dos linfócitos, a atividade da E-NTPDase foi determinada conforme descrito por Leal et al., 2005. O meio de reação continha 0,5mmol/l de CaCl₂, 120mmol/l de NaCl, 5mmol/l de KCl, 6mmol/l de glicose e 50mmol/l de tampão Tris-HCl em pH 8,0, com volume final de 160µl. 20 microlitros das células mononucleares intactas suspensas em solução salina foram adicionados ao meio reacional (0,1 a 0,2 mg/mL de proteína) e pré-incubados por 10min a 37°C e após a primeira incubação, 20ul de ATP ou nucleotídeos ADP foram adicionados. Após realizou-se nova incubação de 70 minutos a 37°C. A reação foi iniciada pela adição de substrato (ATP ou ADP) na concentração final de 2,0mmol/le interrompida com 150µl de ácido tricloroacético (TCA) a 15%. Após suspender a reação com adição de TCA, utilizou-se 20ul do produto final e 200ul do reagente colorimétrico. O fosfato inorgânico (Pi) liberado foi analisado utilizando verde malaquita como reagente colorimétrico. Os controles foram realizados adicionando a preparação enzimática após a adição de TCA para corrigir a hidrólise não enzimática de nucleotídeos. Todas as amostras foram processadas em triplicata e a atividade específica é relatada como nmol Pi liberado/min/mg de proteína. Para realizar a análise, utilizou-se a técnica de absorvância realizada no leitor de microplacas Varioskan (ThermoScientific®) com leitura em 630nm.

4.3.2 Determinação da atividade da E-5'-nucleotidase (CD73)

A atividade da E-5'-nucleotidase/CD73 foi determinada de acordo com Pilla et al. 1996, modificado por Lunkes et al., 2003. O meio reacional continha 10 mmol/l de MgCL, 120 mmol/l de NaCl, 5 mmol/l de KCl, 6 mmol/l de glicose e 50 mmol/l de tampão Tris-HCl em pH 8,0, com volume final de 160µl. 20 microlitros das células mononucleares intactas suspensas em solução salina foram adicionados ao meio reacional (0,1 a 0,2 mg/mL de proteína) e pré-incubados por 10 minutos a 37°C e após a primeira incubação , 20ul de AMP. E após realizou-se nova incubação de 70 minutos a 37°C. A reação foi iniciada pela adição de substrato (AMP) na concentração final de 2,0mmol/le interrompida com 150µl de ácido tricloroacético (TCA) 15%. Após suspender a reação com adição de TCA, utilizar 20ul do

produto final e adicionar 200ul do reagente colorimétrico. O fosfato inorgânico (Pi) liberado foi analisado utilizando verde malaquita como reagente colorimétrico. Os controles foram realizados adicionando a preparação enzimática após a adição de TCA para corrigir a hidrólise não enzimática de nucleótidos. Todas as amostras foram processadas em triplicata e a atividade específica é relatada como nmol Pi liberado/min/mg de proteína. Para realizar a análise, utilizou-se a técnica de absorvância realizada no leitor de microplacas Varioskan (ThermoScientific®) com leitura em 630 nm.

4.3.3 Determinação da atividade da ADA

A atividade da ADA foi medida espectrofotometricamente em linfócitos pelo método de Giusti e Galanti 1984. Resumidamente, 25µL de linfócitos reagiram com 21mmol/L de adenosina pH 6,5 e foram incubados a 37°C por 60min. Este método baseia-se na produção direta de amônia quando a ADA atua em excesso à adenosina. O conteúdo de proteína para o experimento de linfócitos foi ajustado entre 0,1–0,2mg/mL. Os resultados foram expressos em U/L. Uma unidade (1U) de ADA é definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 mmol de amônia por minuto da adenosina em condições de ensaio padrão.

4.3.4 Quantificação de ATP

A quantificação de ATP foi realizada no soro, utilizando o kit ATP Determination (Invitrogen®), seguindo as instruções do fabricante, Além disso, a análise fotométrica foi realizada no leitor de microplacas Varioskan (ThermoScientific®) a 560 nm. Os resultados foram expressos em nM.

4.3.5 Determinação de Proteínas

As quantidades de proteínas foram determinadas pelo método de Bradford 1976, utilizando albumina de soro bovino como padrão.

4.4 CITOMETRIA DE FLUXO

Foram utilizados kits comerciais. O Kit CBA (BD) (cytometric beads array) foi utilizado nesse estudo para a quantificação das citocinas IL-2, INF γ e TNF (Th1), IL-4, IL-6, e IL-10 (Th2) em uma mesma amostra. Seis populações de beads com distintas intensidades

de fluorescência são conjugadas com um anticorpo de captura específico para cada citocina, misturadas para formar o CBA e lidas no canal FL3 do citômetro de fluxo BD Accuri C6 Plus (BD). As populações de beads foram visualizadas de acordo com as suas respectivas intensidades de fluorescência: da menos brilhante para a mais brilhante. No CBA, as beads de captura das citocinas são misturadas com o anticorpo de detecção conjugado com o fluorocromo PE, e depois incubadas com as amostras para formar o ensaio "em sanduíche". Os tubos para aquisição foram preparados com: 25 µL de amostra, 25 µL da mistura de beads e 25 µL do reagente de detecção Th1/Th2 PE (Human Th1/Th2 PE Detection Reagent). O mesmo procedimento foi realizado para a obtenção da curva-padrão. Os tubos foram homogeneizados e incubados por três horas, em temperatura ambiente, no escuro. Os resultados foram gerados em gráficos e tabelas utilizando-se o CBA Analysis Software.

4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todos os experimentos foram realizados em triplicata e os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM), com $p < 0,05$ considerado estatisticamente significativo. A normalidade da distribuição dos dados foi confirmada pelo teste de Shapiro-Wilk (todos $ps > 0,05$). Foram analisados por análise de variância unidirecional ou bidirecional ($p < 0,05$), seguida do teste post hoc de Tukey. Para identificar a diferença dos marcadores bioquímicos de rotina dos pacientes, verificar a atividade das enzimas E-NTPDase1, E-5'-Nucleotidase e ADA em linfócitos e os níveis de citocinas dos pacientes com DRC em tratamento hemodialítico antes e após a submissão desses aos diferentes tratamentos propostos, utilizou-se do teste de Wilcoxon. Para realizar a comparação entre os grupos e intervenções (AUR, EFR, AUR+EFR), foi utilizado o teste de Anova Two-way. Utilizou-se o teste de Dixon para outliers, e foram removidos das análises. O teste de Spearman foi utilizado para analisar a correlação, considerando $r = 1,000$ ou $r = -1,000$ significativo. O software utilizado para as análises foi o GraphPad Prism Software 9.0. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas com $p \leq 0,05$.

5 RESULTADOS

O estudo foi composto por 96 pacientes em programa regular de hemodiálise com idade $55,90 \pm 15,01$ anos, sendo 50% homens e 50% mulheres, distribuídos em três grupos, sendo que o grupo AUR foi composto por 33 pacientes, 14 do sexo masculino e 19 do sexo feminino. O Grupo EFR contemplou 31 pacientes, 15 do sexo masculino e 16 do sexo feminino e o Grupo EFR+AUR foi composto por 32 pacientes, 17 sendo do sexo masculino e 15 do sexo feminino.

Em relação às doenças de base que ocasionaram insuficiência renal nos indivíduos podemos citar as glomerulopatias e outras doenças autoimunes com 31,74% (n=40), HAS com 19,84% (n=25), DM foi responsável por 16,66% (n=21), alguns indivíduos apresentaram mais do que uma patologia de base, foi o caso de DM e HAS representando 15,87% da amostra (n=20) e ainda, causas indeterminadas 15,87% (n=20).

A tabela 1 apresenta os resultados de comparação dos dados dos prontuários dos exames de rotina dos pacientes antes e após as intervenções. Salientamos que ocorreu um aumento dos níveis de FG ($p = 0.0171$) e Albumina plasmática ($p = 0.0013$) no grupo AUR, enquanto que os níveis de glicose reduziram ($p=0.0493$). No grupo EFR houve aumento nos níveis de FG ($p = 0.0272$) e os níveis de Albumina tiveram uma redução ($p = 0.0238$). A associação dos tratamentos por meio da AUR+EFR demonstrou uma diminuição dos níveis de Albumina ($p = 0,0001$) e Ureia ($p = 0,0490$). É relevante sinalizar que os níveis de creatinina não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os resultados dos exames antes e após as intervenções.

Tabela 1 – Dados dos prontuários antes e após as intervenções

Grupos	AUR			EFR			AUR+EFR		
	Pré(n=33)	Pós(n=33)	p	Pré(n=28)	Pós(n=28)	p	Pré(n=24)	Pós(n=24)	p
<i>Filtração Glomerular</i>	5,603 ± 0,400	7,077 ± 0,968	0,0171*	5,513 ± 0,355	7,728 ± 0,689	0,0272*	5,397 ± 0,429	5,903 ± 0,367	0,1229
<i>Albumina</i>	3,856 ± 0,091	4,294 ± 0,822	0,0013*	3,814 ± 0,077	3,725 ± 0,056	0,0238*	4,171 ± 0,099	3,663 ± 0,067	0,0001*
<i>Creatinina</i>	9,194 ± 0,494	9,071 ± 0,508	0,8442	9,587 ± 0,583	7,961 ± 0,582	0,2059	9,621 ± 0,517	9,410 ± 0,433	0,3282
<i>Glicose</i>	151,8 ± 23,480	116,3 ± 7,738	0,0493*	122,1 ± 11,340	117,7 ± 8,231	0,9508	134,1 ± 15,019	127,6 ± 10,276	0,8789
<i>Ureia</i>	144,8 ± 8,015	150,9 ± 8,062	0,7342	156,9 ± 7,496	155,4 ± 6,692	0,7655	164,0 ± 8,956	146,4 ± 9,044	0,0490*

Nota: Dados expressos em média ± Desvio Padrão; *sinaliza a existência de diferença significativa ($p \leq 0,05$) do resultado do exame antes e após intervenção de acordo com o teste de Wilcoxon

Na figura 1 A, B, C, D, E descrevemos a atividade das enzimas NTPdase1, Ecto5'nucleotidase e ADA em relação a hidrólise de ATP, ADP, AMP e Ado e a quantificação de ATP extracelular de pacientes com DRC em hemodiálise antes e após a aplicação dos protocolos de AUR e EFR.

A atividade da ADA está descrita na Figura 1A, revelando aumento após a intervenção no grupo EFR ($p=0,017$). Nos demais grupos não se verificou diferenças significativas. Quando comparamos a atividade da ADA entre os grupos os resultados não foram estatisticamente significativos.

Na Figura 1B é possível sinalizar uma redução estatisticamente significativa na atividade da enzima ecto5'nucleotidase/CD73 em relação à hidrólise do AMP após a intervenção no grupo EFR ($p=0,004$). Os grupos AUR e EFR+AUR não apresentaram

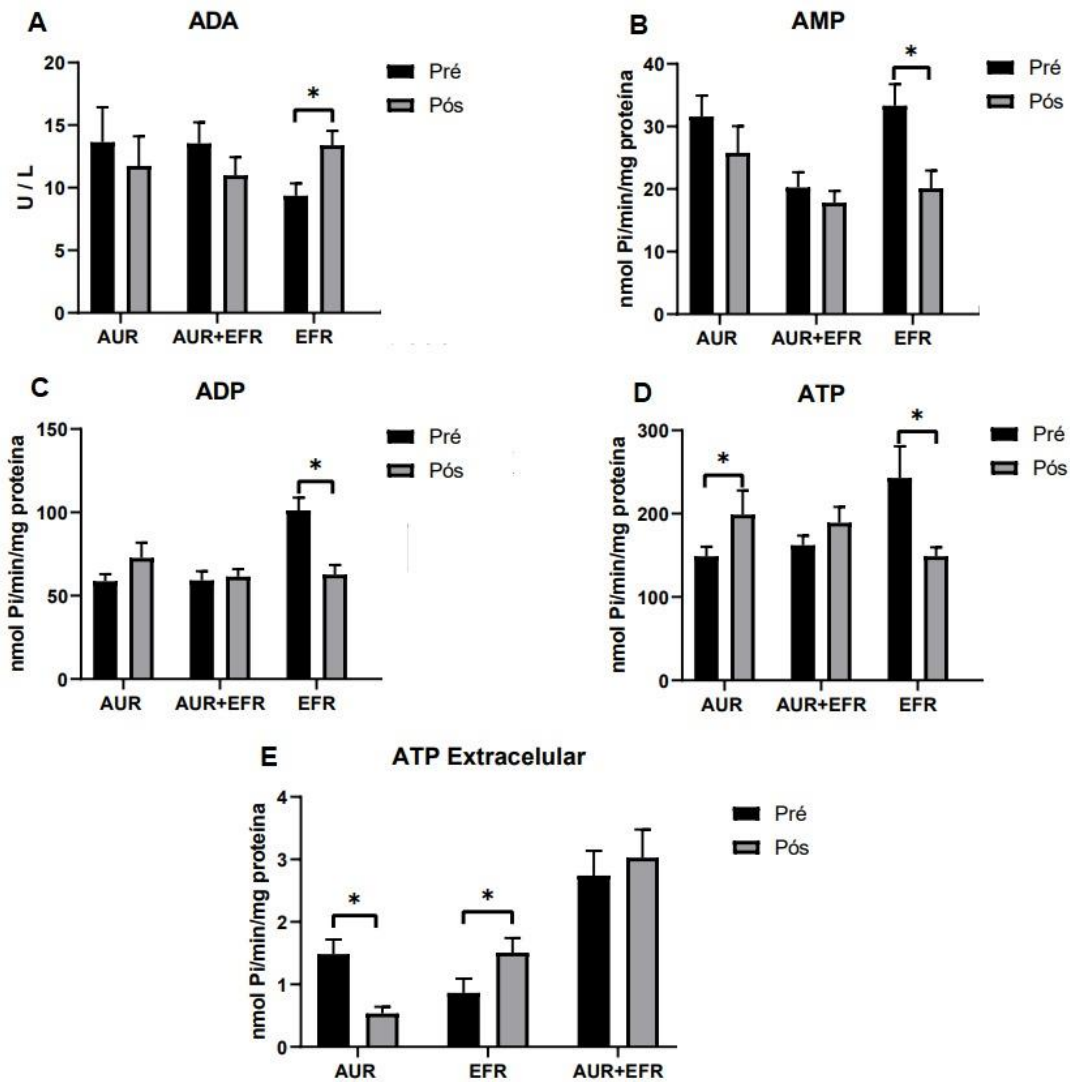
diferenças significativas antes e após a intervenção. Comparando os níveis de hidrólise do AMP entre os grupos não temos os resultados estatisticamente significativos.

A atividade da enzima NTPdase1/CD39 em relação à hidrólise do ADP é relatada na Figura 1C. Foi observada redução da atividade enzimática após a intervenção no grupo EFR ($p < 0,0001$). Os grupos AUR e EFR+AUR não apresentaram diferenças significativas. Ao comparar os níveis de hidrólise do ADP entre os grupos os resultados não foram estatisticamente significativos.

Na figura 1D apresentamos o resultado da atividade da enzima NTPdase1/CD39 em relação à hidrólise do ATP, verificando aumento da atividade após a intervenção no grupo AUR ($p = 0,048$), e redução da atividade após a intervenção no grupo EFR ($p = 0,0016$). A intervenção combinada no grupo EFR+AUR não alterou a atividade da NTPdase1/CD39. Ao testar diferenças na resposta da atividade da NTPdase1/CD39 entre os protocolos aplicados, o teste Anova Two-way ($p = 0,000$) demonstrou respostas diferentes para cada protocolo/intervenção aplicado.

Na figura 1E podemos observar os resultados da quantificação extracelular de ATP, que evidenciam uma redução estatisticamente significativa no grupo AUR ($p = 0,001$), e aumento da quantidade extracelular de ATP no grupo EFR ($p = 0,028$) após as intervenções, também estatisticamente significativo. O grupo AUR+EFR não apresentou resultados estatisticamente significativos após a intervenção. A comparação entre os grupos também não foi estatisticamente significativa.

Figura 1 Atividade CD39 (ATP, ADP), CD73 (AMP), ADA (Ado) e Quantificação de ATP extracelular.



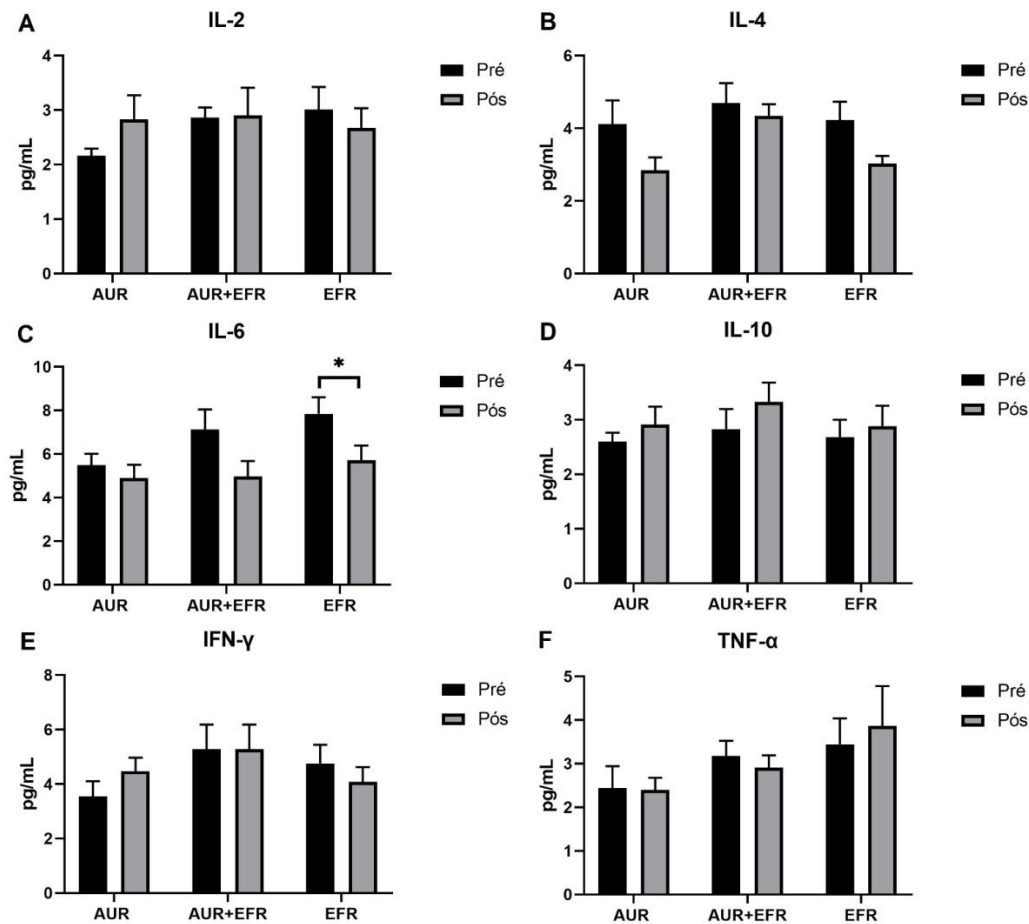
Nota: Dados expressos em média \pm desvio padrão. Figura 1A (AUR pré = $160,00 \pm 29,17$ Aur pós = $271,90 \pm 46,13$ | EFR pré = $260,30 \pm 36,01$ EFR pós = $114,60 \pm 13,62$ | EFR+AUR pré = $126,10 \pm 11,39$ EFR+AUR pós = $178,80 \pm 28,53$); Figura 1B: (AUR pré = $85,57 \pm 29,17$ AUR pós = $146,30 \pm 35,34$ | EFR pré = $114,10 \pm 10,08$ EFR pós = $90,21 \pm 17,16$ | EFR+AUR pré = $68,25 \pm 8,04$ EFR +AUR pós = $99,30 \pm 18,03$); Figura 1C: (AUR pré = $29,01 \pm 6,28$ AUR pós = $35,29 \pm 7,43$ | EFR pré = $36,13 \pm 4,48$ EFR pós = $15,31 \pm 5,40$ | EFR+AUR pré = $26,10 \pm 8,94$ EFR+AUR pós = $30,22 \pm 9,28$); Figura 1D (AUR pré = $7,69 \pm 3,32$ AUR pós = $8,27 \pm 2,00$ | EFR pré = $7,82 \pm 1,04$ EFR pós = $14,31 \pm 1,45$ | EFR+AUR pré = $10,65 \pm 1,78$ EFR+AUR pós = $7,25 \pm 1,85$) Figura 1E (AUR pré = $1,49 \pm 0,19$ AUR pós = $0,25 \pm 0,93$ | EFR pré = $0,55 \pm 0,75$ EFR pós = $1,24 \pm 0,64$ | EFR+AUR pré = $2,51 \pm 1,52$ EFR+AUR pós = $2,13 \pm 1,51$); Figura 1 A, B, C, D, E *sinaliza a existência de diferença significativa ($p \leq 0,05$) antes e após o protocolo segundo teste de Wilcoxon. AUR: n=29; EFR: n=30; EFR+AUR: n= 33.

A quantificação do TNF- α antes e após a aplicação dos protocolos está descrita na Figura 2A. Não houve diferença estatística antes e depois das intervenções, da mesma forma que a comparação entre os grupos não mostrou diferença ($p=0,4413$). A quantificação de IL-6 antes e depois da aplicação dos protocolos está descrita na Figura 2B. O grupo EFR apresentou redução nos níveis de IL-6 ($p=0,0408$) após aplicação do protocolo de EFR, enquanto os demais grupos não apresentaram diferença estatística. A comparação entre os grupos não mostrou diferença estatisticamente significativa.

A quantificação de IL-4 antes e após aplicação dos protocolos está descrita na figura 2C. Não houve diferença estatística antes e depois das intervenções, e entre os grupos. A quantificação de IL-10 antes e após a aplicação dos protocolos está descrita na Figura 2D. Não houve diferença estatística antes e depois das intervenções, da mesma forma que a comparação entre os grupos não mostrou diferença.

A quantificação de IL-2 antes e após a aplicação dos protocolos está descrita na figura 2E. Não houve diferença estatística antes e depois das intervenções, da mesma forma que a comparação entre os grupos não mostrou diferenças. A quantificação do IFN- γ antes e depois da aplicação dos protocolos está descrita na Figura 2F. Não houve diferença estatística antes e depois das intervenções, da mesma forma que a comparação entre os grupos não mostrou diferença significativa.

Figura 2 - Quantificação de citocinas (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ , TNF- α) antes e após aplicação dos protocolos.



Nota: Dados expressos em média \pm desvio padrão. **Figura 2A:** (AUR pré = 2.15 ± 0.49 AUR pós = 2.82 ± 1.71 | EFR pré = 3.00 ± 1.50 EFR pós = 2.67 ± 1.47 | EFR+AUR pré = 2.86 ± 0.58 EFR+AUR pós = 2.90 ± 1.69); AUR pré: n=13; AUR pós: n=15 EFR pré: n=13; EFR pós: n=17; EFR+AUR pré: n= 10; EFR+AUR pós: n= 11. **Figura 2B:** (AUR pré = 4.11 ± 2.05 AUR pós = 2.83 ± 1.18 | EFR pré = 4.16 ± 2.33 EFR pós = 2.81 ± 0.73 | EFR+AUR pré = 4.69 ± 1.90 EFR+AUR pós = 4.35 ± 1.12). AUR pré: n=10; AUR pós: n=11 EFR pré: n=15; EFR pós: n=15; EFR+AUR pré: n=12; EFR+AUR pós: n= 13. **Figura 2C:** (AUR pré = 5.49 ± 2.23 AUR pós = 4.90 ± 2.17 | EFR pré = 7.84 ± 2.94 EFR pós = 5.71 ± 2.57 | EFR+AUR pré = 7.25 ± 4.25 EFR+AUR pós = 4.96 ± 2.56); AUR pré: n=15; AUR pós: n=13 EFR pré: n=15; EFR pós: n=15; EFR+AUR pré: n=15; EFR+AUR pós: n= 13. **Figura 2D:** (AUR pré = 2.60 ± 0.58 AUR pós = 2.96 ± 1.51 | EFR pré = 2.91 ± 1.60 EFR pós = 3.03 ± 1.77 | EFR+AUR pré = 2.90 ± 1.54 EFR+AUR pós = 3.31 ± 1.64); AUR pré: n=14; AUR pós: n=14 EFR pré: n=14; EFR pós: n=14; EFR+AUR pré: n=14; EFR+AUR pós: n= 14. **Figura 2E:** (AUR pré = 3.54 ± 2.09 AUR pós = 4.47 ± 1.83 | EFR pré = 4.75 ± 2.65 EFR pós = 4.08 ± 2.02 | EFR+AUR pré = 5.50 ± 2.69 EFR +AUR pós = 5.28 ± 3.12) AUR: n=14; EFR pré: n=15; EFR pós: n=14; EFR+AUR pré: n= 10; EFR+AUR pós: n=12. **Figura 2F** (AUR pré = 2.44 ± 1.50 AUR pós = 2.40 ± 0.85 | EFR pré = 3.44 ± 1.95 EFR pós = 3.86 ± 2.88 | EFR+AUR pré = 3.18 ± 0.84 EFR+AUR pós = 2.91 ± 0.80); AUR pré: n=9; AUR pós: n=10 EFR pré: n=11; EFR pós: n=10; EFR+AUR pré: n= 6; EFR+AUR pós: n= 8. *sinaliza a existência de diferença significativa ($p \leq 0,05$) antes e após o protocolo segundo teste de Mann-Whitney.

A análise do coeficiente de correlação de Spearman do grupo AUR está descrito na Tabela 2, não houve correlação entre as variáveis do grupo AUR.

Tabela 2 – Correlação Spearman AUR.

Spearman r	ADA	AMP	ADP	ATP	IL-2	IL-4	IL-6	IL-10	TNF- α	IFN- γ
ADA	1.000	-0.446	-0.123	-0.355	0.245	-0.060	-0.022	0.222	-0.690	0.406
AMP	-0.446	1.000	0.382	0.081	0.245	-0.352	-0.137	-0.216	0.595	-0.469
ADP	-0.123	0.382	1.000	0.363	0.009	-0.198	-0.038	-0.467	-0.095	-0.734
ATP	-0.355	0.081	0.363	1.000	-0.400	0.027	0.000	-0.093	-0.286	-0.357
IL-2	0.245	0.245	0.009	-0.400	1.000	-0.136	-0.282	-0.100	-0.310	0.264
IL-4	-0.060	-0.352	-0.198	0.027	-0.136	1.000	0.044	0.379	0.262	-0.021
IL-6	-0.022	-0.137	-0.038	0.000	-0.282	0.044	1.000	-0.038	-0.452	-0.119
IL-10	0.222	-0.216	-0.467	-0.093	-0.100	0.379	-0.038	1.000	0.333	0.266
TNF- α	-0.690	0.595	-0.095	-0.286	-0.310	0.262	-0.452	0.333	1.000	-0.071
IFN- γ	0.406	-0.469	-0.734	-0.357	0.264	-0.021	-0.119	0.266	-0.071	1.000

A análise do coeficiente de correlação de Spearman do grupo EFR está descrito na Tabela 3, não houve correlação entre as variáveis do grupo EFR.

Tabela 3 - Correlação Spearman EFR.

Spearman r	ADA	AMP	ADP	ATP	IL-2	IL-4	IL-6	IL-10	TNF- α	IFN- γ
ADA	1.000	-0.543	-0.144	-0.021	-0.158	-0.482	-0.159	0.216	0.188	-0.606
AMP	-0.543	1.000	0.273	0.164	0.178	0.091	0.203	0.134	-0.140	0.797
ADP	-0.144	0.273	1.000	-0.082	-0.118	-0.127	0.363	0.165	0.103	0.033
ATP	-0.021	0.164	-0.082	1.000	-0.715	0.027	0.445	-0.210	-0.450	0.278
IL-2	-0.158	0.178	-0.118	-0.715	1.000	-0.223	-0.151	-0.201	0.631	0.202
IL-4	-0.482	0.091	-0.127	0.027	-0.223	1.000	0.327	-0.273	0.164	0.378
IL-6	-0.159	0.203	0.363	0.445	-0.151	0.327	1.000	-0.168	0.456	0.558
IL-10	0.216	0.134	0.165	-0.210	-0.201	-0.273	-0.168	1.000	-0.122	-0.123
TNF- α	0.188	-0.140	0.103	-0.450	0.631	0.164	0.456	-0.122	1.000	0.366
IFN- γ	-0.606	0.797	0.033	0.278	0.202	0.378	0.558	-0.123	0.366	1.000

A análise do coeficiente de correlação de Spearman do grupo AUR+EFR está descrito na Tabela 4. Não houve correlação entre as variáveis do grupo AUR+EFR.

Tabela 4 - Correlação Spearman AUR+EFR.

Spearman r	ADA	AMP	ADP	ATP	IL-2	IL-4	IL-6	IL-10	TNF- α	IFN- γ
ADA	1.000	0.041	0.046	0.322	-0.045	0.311	-0.379	0.257	-0.030	0.191
AMP	0.041	1.000	0.094	-0.170	-0.032	-0.003	-0.261	0.055	0.539	0.407
ADP	0.046	0.094	1.000	0.303	0.384	0.335	-0.375	0.207	0.442	0.165
ATP	0.322	-0.170	0.303	1.000	0.141	0.416	0.014	-0.179	-0.018	0.121
IL-2	-0.045	-0.032	0.384	0.141	1.000	-0.049	0.038	0.338	0.480	-0.187
IL-4	0.311	-0.003	0.335	0.416	-0.049	1.000	-0.114	-0.362	-0.345	0.002
IL-6	-0.379	-0.261	-0.375	0.014	0.038	-0.114	1.000	0.029	-0.648	-0.209
IL-10	0.257	0.055	0.207	-0.179	0.338	-0.362	0.029	1.000	0.467	-0.354
TNF- α	-0.030	0.539	0.442	-0.018	0.480	-0.345	-0.648	0.467	1.000	0.418
IFN- γ	0.191	0.407	0.165	0.121	-0.187	0.002	-0.209	-0.354	0.418	1.000

6 DISCUSSÃO

Da mesma forma que os nossos resultados, outros estudos confirmam que indivíduos com idade mais avançada têm maiores chances de desenvolver DRC, e assim necessitar de TSR (MACHADO et al., 2010; WEBSTER 2017) Um estudo descreveu que entre 2000 e 2004, 90.356 pacientes iniciaram TRS no Brasil, com predomínio de hemodiálise. Enquanto que em 2020, segundo o Censo Brasileiro de Diálise o número total estimado de indivíduos que realizavam hemodiálise de foi de 144.779 (variação de $\pm 5\%$ = 137.527 a 152.038), 3,6% maior do que em julho de 2019, confirmando que a tendência de aumento da incidência e prevalência de indivíduos com DRC em hemodiálise observada nos últimos anos se mantém. O número estimado de novos pacientes em diálise no Brasil, em 2020 foi de 44.264, e a taxa de incidência total foi de 209 por milhão de população (pmp), enquanto que a taxa de prevalência de pacientes em diálise continuou a aumentar, de 665 em 2019 para 684 pmp em 2020 (NERBASS et al., 2022).

O Censo Brasileiro de Diálise descreve ainda, que a HA e DM representam um terço de todas as patologias que desencadearam a DRC nesses indivíduos, destacam que a prevalência é maior nos homens (58%) do que em mulheres (42%), e a faixa etária entre 45 e 64 anos é a mais prevalente (NERBASS et al., 2022).

A função renal dos pacientes que realizam hemodiálise deve ser avaliada por meio da estimativa da taxa de FG associada com a determinação da albuminúria, o que possibilita prognóstico de complicações. Esses dados são encontrados nos exames bioquímicos de rotina dos pacientes. Yu et al., avaliaram os marcadores de função renal durante aplicação de um protocolo de acupuntura e eletroacupuntura de 12 semanas, avaliaram 56 pacientes e verificaram aumento da TFG (YU et al., 2017), da mesma forma que verificamos aumento da TFG nos grupos que realizaram AUR e EFR isoladamente e também no grupo que realizou as duas intervenções combinadas.

A albumina também é utilizada como marcador prognóstico na DRC, dentre suas funções destaca-se seu papel na manutenção do volume plasmático circulante e manutenção do equilíbrio ácido-básico. A hipoalbuminemia é um importante determinante da morbidade e mortalidade nesses indivíduos. É importante salientar que fatores como idade, comorbidades, hipervolemia e perdas corpóreas podem influenciar as concentrações séricas de albumina. Além disso, na vigência de inflamação, condição comumente presente neste grupo de

pacientes, o metabolismo da albumina pode encontrar-se alterado, influenciando os seus níveis plasmático. Uma pesquisa multicêntrica, que estudou as variáveis relacionadas com a sobrevida dos pacientes em diálise, mostrou que níveis de albumina sérica inferiores a 2,5g/dL estavam associados a maior risco de mortalidade, tanto na população em hemodiálise como em diálise peritoneal (SANTOS et al., 2004). Nossos resultados apontam aumento nos níveis de albumina no grupo AUR ($p=0,0013$), enquanto que o grupo EFR ($p=0,0238$) e EFR+AUR($p=0,0001$) apresentaram redução nos níveis de albumina. Salientamos que o valor mais baixo foi verificado no grupo AUR+EFR ($3,663\pm 0,067$) enquanto que o valor mais alto foi verificado no grupo AUR ($4,294 \pm 0,822$), esses valores encontram-se distantes dos valores considerados como preditores de desfechos negativos.

Ainda referente aos dados dos prontuários dos pacientes, temos a creatinina, que é um produto residual da creatina e da fosfocreatina oriunda do metabolismo muscular e da ingestão de carne. Aproximadamente 98% da creatina se encontra no músculo e 1,6% a 1,7% desta é convertida em creatinina por dia, que é rapidamente excretada pelo rim. Dessa forma, a produção e liberação de creatinina pelo músculo são constantes. A geração é diretamente proporcional à massa muscular, que varia de acordo com a idade, sexo e etnia e é afetada por condições que causam perda muscular. Pacientes que realizam hemodiálise por longos períodos apresentam redução da massa muscular e as concentrações séricas de albumina se correlacionam diretamente com a creatinina nesta população (SANTOS et al., 2004). Nossos resultados não foram significativos em relação aos níveis de creatinina dos indivíduos.

A literatura descreve que a relação entre a alimentação e perda de massa muscular em pacientes com DRC pode resultar em pior prognóstico. A ingestão deficiente de nutrientes contribui para hipoalbuminemia o que vai interferir também na nos índices de FG. O EF gera alterações positivas em relação à composição corporal dos indivíduos, reduzindo a gordura corporal e aumentando a massa muscular, essas alterações podem estar relacionadas à melhora da FG e a um prognóstico favorável da DRC em pacientes em hemodiálise (WILKINSON et al., 2020). Alguns estudos apontam que na população com DRC pré-diálise o EF parece melhorar a vasodilatação mediada pelo endotélio, atenuar o aumento da atividade do sistema nervoso simpático, reduzir a proteína urinária, melhorar o fluxo sanguíneo renal e a função renal residual em pacientes com DRC não dialíticos, diminuindo a pressão arterial, os lipídios sanguíneos e o índice de massa corpórea, e com isso atrasando deterioração da função renal (ZHANG et al., 2019)

Houve aumento estatisticamente significativo da atividade de CD39 em relação à hidrólise de ATP ($p= 0,0369$) nos pacientes do grupo AUR (Figura 1D), e associado a menor quantidade de ATP extracelular (Figura 1E) neste grupo após a intervenção, pode-se inferir um efeito anti-inflamatório da auriculoterapia nesses indivíduos. Encontramos limitações na literatura em relação aos estudos que avaliaram a auriculoterapia em relação ao sistema purinérgico e seus efeitos anti-inflamatórios. Um estudo mostrou uma ação importante da acupuntura e do sistema purinérgico nos mecanismos nociceptivos, onde mostraram aumento da hidrólise de ATP e aumento dos níveis de ADA, embora em nosso trabalho a ADA não tenha mostrado diferença significativa no grupo AUR (SCHMIDT, 2021). Ainda em relação ao grupo AUR, verificamos que as citocinas analisadas TNF- α ($p=0,7032$), IL6 ($p=0,4956$), IL4 ($p=0,1567$), IL10 ($p=0,7598$), IL2 ($p= 0,7595$) e IFN- γ ($p=0,1743$) não apresentaram resultados estatisticamente significativos após a aplicação dos protocolos.

A literatura é escassa em relação à auriculoterapia e aos níveis de citocinas em indivíduos com DRC, porém, uma revisão sistemática que incluiu 18 estudos com modelos animais que apresentavam doenças respiratórias e inflamações descreveu que citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, 6, 8, 18 e TNF- α apresentaram redução dos níveis após a aplicação dos protocolos de acupuntura. Em contraste, as citocinas anti-inflamatórias, como a IL-10, mostraram uma tendência oposta. Assim, os autores sugerem que a acupuntura pode possivelmente reduzir a inflamação, aumentando a secreção de citocinas anti-inflamatórias e reduzindo as pró-inflamatórias. Porém, os autores destacam que as citocinas podem se apresentar de diferentes formas no organismo, uma mesma citocina pode ter propriedades pró e anti-inflamatórias, o que dificulta a análise (LIU et al., 2021; LEE, KIM., 2022).

Os pacientes do grupo EFR apresentaram redução da hidrólise de ATP (Figura 1D) ($p = 0,0003$), ADP ($p = 0,0449$) (Figura 1C), e AMP ($p = 0,0093$) (Figura 1B) após a execução do protocolo, esses resultados foram estatisticamente significativos. Ao analisar os resultados da quantificação de ATP extracelular (Figura 1E), verificamos um aumento, indicando uma ação pró-inflamatória aguda do EFR. Em outros estudos, podemos verificar que os efeitos anti-inflamatórios do EFR foram obtidos com protocolos mais longos, a partir de 30 semanas de exercício (SM; FM, 2018).

Dungey et al. (2017) descreveram que embora pacientes com DRC em hemodiálise apresentem níveis crônicos de inflamação, um protocolo de 6 meses de exercício físico intradialítico reduziu os níveis circulantes de citocinas inflamatórias nesses pacientes. Outro estudo realizado com idosos descreveu que 6 meses de treinamento aeróbico foram responsáveis pela redução dos níveis de TNF- α e IL6, e aumento dos níveis de IL-10 nos participantes (SM; FM, 2018).

Da mesma forma, nossos resultados demonstram que o grupo que realizou EFR (Figura 2C) apresentou redução nos níveis de IL6 ($p=0,0408$). A literatura descreve que a IL6 pode ser tanto pró-inflamatória quanto anti-inflamatória, dificultando a interpretação precisa desse resultado (LIU et al., 2021; LEE, KIM., 2022). Os resultados das demais citocinas (Figura 2) não foram estatisticamente significativos no grupo que realizou EFR. Da mesma forma, os participantes que realizaram as duas intervenções AUR+EFR não obtiveram resultados estatisticamente significativos em relação ao sistema purinérgico e às citocinas.

Estudo realizado com indivíduos com síndrome metabólica mostrou que na condição pré-treino, os linfócitos desses indivíduos apresentaram aumento na hidrólise de ATP, ADP ($p<0,001$) e diminuição na atividade de ADA ($p<0,001$) em comparação com o grupo controle. Após 30 semanas de treinamento, a hidrólise de ATP e ADP ($p<0,05$) diminuíram e a atividade de ADA ($p<0,05$) aumentou, em comparação à condição pré-treinamento, demonstrando níveis semelhantes aos do grupo controle, o que confirma a necessidade de praticar exercícios regulares para obter melhores efeitos protetores, e o uso de protocolos de treinamento mais longos, para obter efeitos anti-inflamatórios (MARTINS et al., 2016).

Da mesma forma, outro estudo que avaliou os efeitos de 27 semanas de treinamento resistido sobre a atividade das nucleotidasas em indivíduos hipertensos, confirma que em condições pré-treinamento, os linfócitos de indivíduos hipertensos apresentaram aumento na hidrólise de ATP ($p < 0,05$), ADP ($p < 0,05$), na atividade da ADA ($p < 0,05$) e nos níveis séricos de ATP ($p < 0,05$) em relação ao grupo normotenso. Após o período de treinamento, a hidrólise de ATP ($p < 0,05$), ADP ($p < 0,05$) e ADA ($p < 0,05$) diminuiu assim como os níveis séricos de ATP ($p < 0,05$) no grupo hipertenso em comparação ao pré-treinamento. Os resultados demonstraram a relação entre sinalização purinérgica e inflamação na hipertensão e sugerem que o treinamento resistido pode ser usado para reduzir a inflamação em mulheres hipertensas, modulando o sistema purinérgico (LAMMERS et al., 2020).

Em um estudo com mulheres diabéticas, os autores observaram um aumento da atividade da NTPDase em pacientes com DM. Após a aplicação de um protocolo de EFR de 16 semanas essa atividade reduziu, o que demonstra uma diminuição da atividade dos linfócitos ou, também, um ambiente menos concentrado de ATP, ambos significando um estado menos inflamado (CHAVES et al., 2022).

A literatura descreve que uma liberação moderada e controlada de ATP pode exercer benefícios em tecidos danificados, pois ativam respostas homeostáticas reparadoras, em contrapartida uma liberação maior e descontrolada de ATP por estresse mecânico, desbalanço metabólico, trauma ou infecções provoca a ativação excessiva dos receptores P2 em células imunes e não imunes. Ocorre então a produção anormal de citocinas pró-inflamatórias e mediadores inflamatórios ocasionando danos nos tecidos e levando ao recrutamento de células imunes que levam à condições inflamatórias crônicas (FERRARI et al., 2015).

Verificamos um aumento estatisticamente significativo em relação à atividade da ADA ($p = 0,0026$) nos pacientes do grupo EFR (Figura 1A). A ADA é uma enzima produzida por linfócitos cuja principal função é atuar no metabolismo das purinas. Sendo assim, o aumento da atividade de ADA é um indicativo de ativação dos linfócitos. O EF, por meio da atividade das ectonucleotidases, tende a um aumento na concentração plasmática de Ado, a qual é uma molécula cardioprotetora que inibe os efeitos inflamatórios e pró-trombóticos (LE; ESSACKJEE; BALLARD, 2014; MARTINS, 2016).

O ATP e a Ado são importantes mensageiros do processo imunológico e inflamatório e alterações em seus níveis representam alterações na homeostase metabólica e imunoinflamatória. Enquanto o ATP é uma molécula pró-inflamatória que estimula os linfócitos e a liberação de citocinas pró-inflamatórias, a Ado apresenta ações anti-inflamatórias e imunossupressoras ao inibir a proliferação de células T e a secreção de citocinas pró-inflamatórias. Consequentemente, por controlar os níveis de ATP e Ado, as enzimas E- NTPDase e ADA desempenham um papel importante na modulação das ações purinérgicas no processo inflamatório (MARTINS, 2016).

Portanto, podemos sugerir que os efeitos inflamatórios do EFR podem estar relacionados às modificações do exercício para promover o reparo e remodelamento tecidual após um trauma, por exemplo. Esse processo inflamatório pode ser local e sistêmico, e é alcançado por meio de inúmeros sistemas e células, com objetivo de restabelecer a

homeostasia orgânica após uma única sessão ou após diversas sessões de exercícios. A resposta de fase aguda consiste de ações integradas entre leucócitos, citocinas, proteínas de fase aguda, hormônios e outras moléculas sinalizadoras, dentre essas, o sistema purinérgico, que controlam a resposta tanto a uma sessão de exercícios como também direcionam as adaptações decorrentes do treinamento (SILVA; MACEDO, 2011; MARTINS, 2016).

Cabe destacar que durante uma sessão de EF moderado ocorre a mobilização de moléculas de ATP e o aumento na produção de Ado, indicando importante participação do sistema purinérgico nas respostas induzidas pelo EF. (MARTINS, 2016).

Alguns estudos sobre exercício físico e funcionalidade de nucleotidasas humanas sugerem que protocolos de exercício agudo e crônico induzem a adaptações transitórias na atividade e expressão de NTPDases, ecto5'nucleotidasas e ADA em diferentes amostras biológicas. Essas adaptações da nucleotidase modificam os níveis de nucleotídeos e nucleosídeo de Ado, possivelmente modulando a coagulação, a inflamação e a atividade vascular associadas à resposta ao EF. Além disso, ressaltam que o EF prolongado induz melhorias nos parâmetros cardiometabólicos e inflamatórios e a funcionalidade das enzimas purinérgicas pode estar relacionada a esses marcadores (MORITZ et al., 2022).

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por fim, com base no exposto, concluímos que é possível afirmar que o EFR promove alterações nos componentes do sistema purinérgico nos linfócitos, essas alterações são dependentes da intensidade do exercício, duração, nível de condicionamento dos sujeitos analisados, tecido analisado, entre outros fatores. Embora os estudos apresentem resultados controversos em alguns casos, todos os estudos atualmente disponíveis mostram que o sistema purinérgico é alterado pelo EF, independentemente da modalidade do exercício e da população e comorbidades dos indivíduos.

Tanto a AUR quanto o EFR apresentaram melhores índices de FG nos indivíduos com DRC submetidos as intervenções. Ainda, a AUR é uma técnica segura, eficaz e promove efeitos anti-inflamatórios em pacientes com diagnóstico de DRC em tratamento hemodialítico, e o EFR mostrou alguns resultados divergentes, enquanto que apresentou redução na hidrólise de ATP, ADP e AMP caracterizando um efeito inflamatório, apresentou maior atividade de ADA, que está relacionada a efeitos antitrombóticos, anticoagulantes e cardioprotetores. Sugerimos então, que protocolos mais longos sejam estudados, para melhor compreensão dos efeitos do EFR.

É importante destacar que há uma limitação na literatura principalmente em relação aos estudos envolvendo os efeitos da auriculoterapia relacionados ao sistema purinérgico, e às ectonucleotidasas e seus efeitos antiinflamatórios, dessa forma, outros estudos nessa área são necessários.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, L. K. DE et al. Fatores associados à doença renal crônica: inquérito epidemiológico da Pesquisa Nacional de Saúde. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 23, 2020.

BECKER, L. V. et al. ATP signaling and NTPDase in Systemic Lupus Erythematosus (SLE). **Immunobiology**, v. 224, n. 3, p. 419–426, maio 2019.

BIZUTI, M.R.; JOST, L. N.; SILVA, D. T. R. ATUAÇÃO DOS RECEPTORES PURINÉRGICOS P2X1 E P2X7 NA DOENÇA RENAL CRÔNICA. **Anais do SEPE - Seminário de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFFS**, v. 9, n. 1, 18 set. 2019.

BORJA PEREZ-DOMINGUEZ et al. Effects of resistance training on patients with End-Stage Renal Disease: an umbrella review with meta-analysis of the pooled findings. **Journal of Nephrology**, v. 36, n. 7, p. 1805–1839, 15 jun. 2023.

BURNSTOCK, G. Purinergic nerves. **Pharmacology**, v. 24, p. 509–581, 1972.

BURNSTOCK, G. Historical review: ATP as a neurotransmitter. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 27, n. 3, p. 166–176, mar. 2006.

BRADFORD, M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248–254, 7 maio 1976.

BRITO, G.M.C. Relação neutrófilos/linfócitos e relação plaquetas/linfócitos como marcadores de inflamação em pacientes renais crônicos não dialíticos. **Universidade Federal do Maranhão**, 2019. Disponível em: <<https://tedebc.ufma.br/jspui/bitstream/tede/3043/2/GYSLENEBRITO.pdf>>. Acesso em jan, 2023.

CAETANO, A. F. P. et al. Estágios da doença renal crônica e suas associações com o nível de atividade física, qualidade de vida e perfil nutricional. **Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde**, v. 27, p. 1–9, 24 maio 2022.

Sinalização purinérgica: implicações fisiopatológicas. Organizadores: Andréia Machado Cardoso, Leandro Henrique Manfredi, Sara Franco Vieira de Oliveira Maciel. – Chapecó: **Ed. UFFS**, 2021. – il. Disponível em: <https://www.uffs.edu.br/institucional/reitoria/editora-uffs/sinalizacao_purinergica_implicacoes_fisiopatologicas>. Acesso em 30, jan, 2023.

CHAVES et al., A relação entre sistema purinérgico, inflamação e exercício físico na diabetes mellitus tipo 2. **Anais do SEPE - Seminário de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFFS**, v. 9, n. 1, 18 set. 2019.

COSTA, R.L. Caracterização da atividade da adenosina desaminase em linfócitos e plaquetas humanos. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal De Santa Maria. 2019. Disponível em: <<https://ppgpmbqbm.ufms.br/files/2021/05/Disserta%C3%A7%C3%A3o-Mestrado-Luciana-Rocha-Costa.pdf>>. Acesso em: 1 fev. 2023.

EBERT, T. et al. Inflammation and Premature Ageing in Chronic Kidney Disease. **Toxins**, v. 12, n. 4, p. 227, 1 abr. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7232447/>.

FARIA, W. F. DE et al. HIIT, Resistance Training, And Risk Factors In Adolescents: A Systematic Review. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 26, n. 6, p. 558–564, dez. 2020.

FERRARI, D. et al. Purinergic signaling in atherosclerosis. **Trends in Molecular Medicine**, v. 21, n. 3, p. 184–192, mar. 2015.

FILOMENA, M. Sistema purinérgico e perfil oxidativo em pacientes soropositivos para o HIV-1 em resposta a suplementação de vitamina D. **Repositório UFSC**. 2018.

FRÓES, N. B. M. et al. Effects of auriculotherapy in the treatment of nausea and vomiting: a systematic review. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 75, n. 1, 2022..

GIUSTI G, GALANTI B. Colorimetric method. In HU Berg-meyer, *Methods of Enzymatic Analysis*, 3rd ed., Verlag Chemie, Weinheim, p. 315-323. 1984.

GOMES BASTOS, M.; BREGMAN, R.; MASTROIANNI KIRSZTAJN, G. Artigo de Revisão introdução. **Rev Assoc Med Bras**, v. 56, n. 2, p. 248–53, 2010.

GOUVEIA, D. S. E S. et al. Analysis of economic impact among modalities of renal replacement therapy. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 39, n. 2, 2017.

JR., M. L. O Envolvimento de Receptores Purinérgicos no Rim: Implicações Fisiológicas e Fisiopatológicas. **J. Bras. Nefrol.**, v. 29, n. 4, p. 264–271, 30 out. 2007.

JUNIOR, J. E. R. Doença Renal Crônica: Definição, Epidemiologia e Classificação. **J. Bras. Nefrol.**, v. 26, n. 3 suppl. 1, p. 1–3, 23 set. 2004.

LAMMERS, M. D. et al. The anti-inflammatory effect of resistance training in hypertensive women: the role of purinergic signaling. *Journal of Hypertension*, v. 38, n. 12, p. 2490–2500, 16 jul. 2020.

LE, G. Y.; ESSACKJEE, H. C.; BALLARD, H. J. Intracellular adenosine formation and release by freshly-isolated vascular endothelial cells from rat skeletal muscle: effects of hypoxia and/or acidosis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 450, n. 1, p. 93–98, 18 jul. 2014.

LEAL, D.B. (2005) HIV infection is associated with increased NTPDase activity that correlates with CD39-positive lymphocytes. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1746, n.2, p.129-134.

LEE, S.; KIM, S.-N. The Effect of Acupuncture on Modulating Inflammatory Cytokines in Rodent Animal Models of Respiratory Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 878463, 15 jun. 2022.

LIU, C. et al. Cytokines: From Clinical Significance to Quantification. **Advanced Science**, v. 8, n. 15, p. 2004433, 10 jun. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34114369/>

LUGON, J. R. Doença Renal Crônica no Brasil: um problema de saúde pública. **J. Bras. Nefrol.**, v. 31, n. 1 suppl. 1, p. 2–5, 19 fev. 2009.

LUNKES, G. I. et al. Enzymes that hydrolyze adenine nucleotides in diabetes and associated pathologies. **Thrombosis Research**, v. 109, n. 4, p. 189–194, fev. 2003.

MACHADO, E. et al. Mariangela Leal Cherchiglia I. **Rev Saúde Pública**, v. 44, n. 4, p. 639–688, 2010.

MARTINS, C. Efeitos do exercício físico sobre a atividade de enzimas que degradam nucleotídeos e nucleosídeo de adenina em pacientes com síndrome metabólica. Tese de Doutorado, 110p. **Universidade Federal de Santa Maria**. 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/17720/TES_PPGBT_2016_MARTINS_CAROLINE.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

MARTINS, C. et al. Exercise Training positively modulates the Ectonucleotidase Enzymes in Lymphocytes of Metabolic Syndrome Patients. **Int J Sports Med**. v. 37, n. 12, p. 930–936, 14 set. 2016.

MATOS, É. F.; LOPES, A. Modalidades de hemodiálise ambulatorial: breve revisão. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 22, n. spe1, p. 569–571, 2009.

Medicina ambulatorial : condutas de atenção primária baseadas em evidências [recurso eletrônico] / Organizadores, Bruce B. Duncan ... [et al.]. – 4. ed. – Porto Alegre : Artmed, 2014.

MERINI, L. R. et al., Citocinas pró-inflamatórias em artrite induzida por adjuvante: Uma revisão da ação imunomoduladora de substâncias bioativas [Internet]. **Scientia Amazonia**, v. 1, n.3. Disponível em: <https://scientia-amazonia.org/wp-content/uploads/2016/06/v1-n3-27-39-2012-1.pdf>

MORITZ, C. E. J. et al. Effects of physical exercise on the functionality of human nucleotidases: A systematic review. **Physiological Reports**, v. 10, n. 18, set. 2022.

NERBASS, Fabiana B; LIMA, Helbert do Nascimento; THOMÉ, Fernando Saldanha; VIEIRA NETO, Osvaldo Merege; LUGON, Jocemir Ronaldo; SESSO, Ricardo. Brazilian Dialysis Survey 2020. **Braz. J. Nephrol.**, v. 44, n. 3, p. 349-357, Feb. 2022. <https://www.scielo.br/j/jbn/a/3Jts9Jdpcy5vc5MFjdMwV3g/?format=pdf&lang=en>

PEREIRA, C. V.; LEITE, I. C. G. Fatores associados à não adesão ao regime terapêutico de pacientes em hemodiálise. **Cadernos Saúde Coletiva**, 21 nov. 2022.

PILLA, C. et al. ATP diphosphohydrolase activity (apyrase, EC 3.6.1.5) in human blood platelets. **Platelets**, v. 7, n. 4, p. 225–230, jan. 1996.

PINHO, N. A. DE; SILVA, G. V. DA; PIERIN, A. M. G. Prevalence and factors associated with chronic kidney disease among hospitalized patients in a university hospital in the city of São Paulo, SP, Brazil. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 37, n. 1, 2015.

PUHLE, J. G. 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. Dissertação de Mestrado. **Uffs.edu.br**, 12 maio 2022.

QIU, Z. et al. Physical Exercise and Patients with Chronic Renal Failure: A Meta-Analysis. **BioMed Research International**, v. 2017, p. 1–8, 2017.

RAZZERA, B. N. et al. Impacts of mindfulness-based interventions in people undergoing hemodialysis: a systematic review. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 44, p. 84–96, 11 out. 2021.

REGATEIRO, F. S.; COBBOLD, S. P.; WALDMANN, H. CD73 and adenosine generation in the creation of regulatory microenvironments. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 171, n. 1, p. 1–7, 3 dez. 2012.

SANTOS, N. S. J. DOS et al. Albumina sérica como marcador nutricional de pacientes em hemodiálise. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 3, p. 339–349, set. 2004.

SGNAOLIN, V.; FIGUEIREDO, A. E. P. L. Adesão ao tratamento farmacológico de pacientes em hemodiálise. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 34, n. 2, p. 109–116, jun. 2012.

SCHMIDT, A. P.; SCHMIDT, S. R. G. The role of the purinergic system in the acupuncture-induced analgesia. **Brazilian Journal Of Pain**, v. 4, n. 2, 2021.

SILVA, A. P. G. DA; ARAÚJO, M. DAS G. R. DE; GUERINO, M. R. Efeitos da auriculoterapia com sementes de mostarda na dor lombar crônica de profissionais de enfermagem. **Fisioterapia e Pesquisa**, v. 28, p. 136–144, 17 set. 2021.

SILVA, F. O. C. DA; MACEDO, D. V. Exercício físico, processo inflamatório e adaptação: uma visão geral. DOI: 10.5007/1980-0037.2011v13n4p320. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, v. 13, n. 4, 4 ago. 2011.

SM, A. E.-K.; FM, A.-S. Inflammatory Cytokines and Immune System Modulation by Aerobic Versus Resisted Exercise Training for Elderly. **Afr Health Sci**. 2018;18(1):120-131. doi:10.4314/ahs.v18i1.16. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29977265/>>.

TAVARES, A. P. DOS S. et al. Kidney supportive care: an update of the current state of the art of palliative care in CKD patients. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 43, n. 1, p. 74–87, mar. 2021.

VIANNA, H. R. et al. Inflamação na doença renal crônica: papel de citocinas. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 33, n. 3, p. 351–364, set. 2011.

VIEIRA, A. et al. Does auriculotherapy have therapeutic effectiveness? An overview of systematic reviews. **Complementary Therapies in Clinical Practice**, v. 33, p. 61–70, nov. 2018.

WILKINSON, T. J.; SHUR, N. F.; SMITH, A. C. “Exercise as medicine” in chronic kidney disease. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 26, n. 8, p. 985–988, 1 ago. 2016.

WILKINSON, T. J. et al. Advances in exercise therapy in predialysis chronic kidney disease, hemodialysis, peritoneal dialysis, and kidney transplantation. **Current Opinion in Nephrology and Hypertension**, v. 29, n. 5, p. 471–479, 1 set. 2020.

YU, J.-S. et al. Acupuncture on Renal Function in Patients with Chronic Kidney Disease: A Single-Blinded, Randomized, Preliminary Controlled Study. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 23, n. 8, p. 624–631, ago. 2017.

ZHANG, L. et al. Exercise therapy improves eGFR, and reduces blood pressure and BMI in non-dialysis CKD patients: evidence from a meta-analysis. **BMC Nephrology**, v. 20, n. 1, 29 out. 2019.