

EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE COMPONENTES DO SISTEMA PURINÉRGICO E PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS EM LINFÓCITOS DE MULHERES COM DIABETES MELLITUS TIPO 2

**LUCAS MACEDO CHAVES^{1,2*}, SAMANTHA NUNCIO PRESTES³, ANDRÉ
CAMPOS DE LIMA⁴, DR^a ANDREIA MACHADO CARDOSO^{2,5}**

1 Introdução

A Diabetes Mellitus do tipo 2 (DM2) tem assumido proporções epidêmicas mundialmente, contabilizando um total de 463 milhões de indivíduos com diabetes em 2019 e, gerando um gasto de 760 bilhões de dólares (WILLIAMS *et al.*, 2020) para o tratamento, sendo que seus principais causadores estão associados ao sedentarismo e obesidade (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2019). Atualmente, o Brasil possui 12,4 milhões de pessoas com diabetes e, o estado de Santa Catarina possui 27,4% dos casos.

A fisiopatologia da DM2 está intimamente relacionada à inflamação crônica de baixo grau (LONTCHI-YIMAGOU *et al.*, 2013). Citocinas pró inflamatórias, produzidas por linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ (FOTINO; DAL BEN; ADINOLFI, 2018), estão aumentadas em pacientes com DM2 e são correlacionadas com a resistência insulínica e progressão da doença (VAN POPPEL *et al.*, 2014), explicando o porquê dessa relação entre a os linfócitos e a DM2.

Uma das principais vias de modulação da síntese de citocinas pró inflamatórias em linfócitos é a sinalização purinérgica (JUNGER, 2011). Essa sinalização é composta por moléculas sinalizadoras (ATP, ADP e adenosina), receptores para essas moléculas e enzimas que as degradam. Sabe-se que na DM2 há uma alteração importante no balanço entre os componentes do sistema purinérgico, promovendo um estado pró inflamatório nos linfócitos, assim a modulação desse sistema pode ser um meio de restaurar o balanço inflamatório em linfócitos de pacientes com DM2 (BURNSTOCK; NOVAK, 2013). Nessa ótica, o EF desponta como uma estratégia terapêutica não farmacológica para o gerenciamento do quadro diabético, mo-

1Acadêmico de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó, contato: lucas.chaves@uffs.edu.br

2 Grupo de Pesquisa: Estudos biológicos e clínicos em patologias humanas

3Acadêmica de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó, contato: Samantha.prestes@uffs.edu.br

4 Educador físico, Mestrando do Programa de Pós-Graduação em ciências biomédicas. Chapecó, SC, Brasil,

5Doutora em Bioquímica e docente dos cursos de Medicina e de Pós-graduação em Ciências Biomédicas, Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Chapeco, **Orientadora**



dulando receptores e transmissores purinérgicos que podem reduzir o processo inflamatório desenvolvido no organismo (MENDES et al., 2016).

Dessa forma, torna-se de fundamental importância aprofundar o conhecimento a respeito do efeito do EF nos componentes da sinalização purinérgica em linfócitos, na DM2, com o objetivo de melhor compreender os possíveis mecanismos envolvidos na ação de um protocolo específico de EF e, assim, aprimorar as abordagens terapêuticas para os pacientes acometidos com essa doença.

2 Objetivos

Avaliar o efeito de um protocolo de treinamento físico sobre a atividade e expressão dos componentes do sistema purinérgico em linfócitos e sobre parâmetros inflamatórios em mulheres com DM2 e mulheres saudáveis.

3 Metodologia

A população do estudo foram mulheres sedentárias de 40 a 60 anos com DM2 e mulheres na mesma faixa etária sedentárias saudáveis, divididas em dois grupos: grupo treinamento diabético (GTD) composto por mulheres com DM2 e grupo treinamento saudável (GTS), composto por mulheres saudáveis. Tivemos uma amostra de 21 para o GTD e de 21 para o GTS.

As mulheres selecionadas foram avaliadas em dois momentos, um antes da aplicação do protocolo de treinamento concorrente e um após a aplicação desse protocolo. A avaliação consistia em uma coleta de 20 ml de sangue periférico por punção venosa, posteriormente, foram submetidas a aplicação de dois questionários: O primeiro é o questionário de história de saúde (QHS) (ACSM, 2011) e o segundo o questionário de qualidade alimentar “como ter uma alimentação saudável” (BRASIL, 2013). Por fim, foram avaliados força de membros superiores, pelo teste de preensão manual (KAMINSKY, 2011), força de membros inferiores, pelo teste de sentar e levantar (NAKANO, 2007), e capacidade cardiorrespiratória, pelo *Shuttle Walking Test* (LIMA et al., 2019). Na primeira avaliação as pacientes assinaram o TCLE antes de iniciar as coletas.

O protocolo de treinamento concorrente foi aplicado por 16 semanas seguindo a seguinte ordem: As duas primeiras semanas serão destinadas à familiarização das participantes com o espaço e os aparelhos que serão utilizados para o treinamento. Nas semanas seguintes, será realizado o treinamento físico.

4 Resultados e Discussão

Foi possível observar como o exercício afeta diretamente a função do sistema purinérgico em linfócitos. A atividade da NTPDase no grupo diabético estava significativamente aumentado no grupo diabético quando comparado com o grupo controle antes do protocolo de exercício ($139,1 \pm 77,26$ nmolPi/min/mg proteína vs $93,78 \pm 51,59$ nmol Pi/min/mg proteína; $P= 0,0245$) No grupo diabético houve uma redução de 58% na atividade da NTPDase, comparando o pré treinamento ($139,1 \pm 77,26$ nmolPi/min/mg proteína) com o pós treinamento ($58,63 \pm 21,18$ nmolPi/min/mg proteína) quando o substrato era o ATP ($P < 0,0001$) e uma redução de 44% ($149 \pm 71,99$ nmolPi/min/mg proteína vs $66,53 \pm 22,41$ nmolPi/min/mg proteína) quando o substrato era o ADP ($P < 0,0001$). O grupo de mulheres sem diabetes também apresentou redução na atividade da NTPDase ($93,78 \pm 51,59$ vs $36,76 \pm 19,21$; $P = 0,0012$) em ATP e, também em ADP ($101,8 \pm 53,57$ vs $47,95 \pm 19,29$; $P=0,0018$).

Assim como observado na literatura (GARCÍA-HERNÁNDEZ *et al.*, 2011), nossos resultados apontaram para um aumento da atividade da NTPDase em pacientes com diabetes, o que pode ser visto como um marcador de atividade dos linfócitos T reguladores (GARCÍA-HERNÁNDEZ *et al.*, 2011; GUZMAN-FLORES *et al.*, 2015), uma vez que a CD39 é um antígeno que ativa essas células (PULTE *et al.*, 2007, p. 39). Esse aumento pode, ainda, representar um mecanismo compensatório, posto que a CD39 também protege as células da lise promovida por altas concentrações de ATP (FILIPPINI *et al.*, 1990). Assim, após a aplicação do protocolo de exercício essa atividade foi diminuída, o que demonstra uma diminuição da atividade dos linfócitos ou, também, um ambiente menos concentrado de ATP, ambos significando um estado menos inflamado.

Nesse sentido, analisou-se a concentração de ATP nos linfócitos. Antes da aplicação do protocolo de treinamento a concentração de ATP no grupo diabético estava significativamente maior que o grupo controle ($581,4 \pm 146,2$ vs $421,5 \pm 83,29$; $P < 0,0001$), o que confirma que a diabetes promove um aumento do ATP, ativando mais receptores do tipo P2X que são correlacionados a aumentos em mediadores pro inflamatórios como a proteína C-reativa, TNF- α e IL-1 β (WU *et al.*, 2015). Após a aplicação do protocolo de exercício houve uma redução significativa da concentração de ATP no grupo diabético ($581,4 \pm 146,2$ vs $487,4 \pm 84,16$; $P= 0,0215$), demonstrando que o exercício é um importante regulador do sistema purinérgico, fazendo com que haja diminuição da concentração do ATP e consequentemente menor atividade de receptores P2X e menor atividade inflamatória em linfócitos.



Por fim, analisou-se a expressão da enzima Adenosina Deaminase (ADA) sendo observado que, antes da aplicação do exercício, a atividade da ADA em pacientes com diabetes está aumentada quando comparado com grupo controle ($42,96 \pm 30,97$ vs $8,588 \pm 10,51$; $P < 0,0001$). Após a aplicação do exercício físico, houve uma redução significativa da atividade da ADA no grupo diabético ($42,96 \pm 30,97$ vs $15,71 \pm 14,14$; $P = 0,0009$).

Corroborando, Pereira *et al* (2018), observou uma alteração na sinalização purinérgica e aumento de CD39 e adenosina desaminase em ratos com DM2, refletindo altos níveis de ATP ativando células T e P2X7 em sua membrana e, conseqüentemente, aumento da atividade de ADA, reduzindo os níveis de adenosina anti-inflamatória. Ademais, quando comparados pacientes com diabetes controlada ou não controlada, percebeu-se maiores níveis séricos de ADA2 em pacientes não controlados (LARIJANI *et al.*, 2016). Nesse sentido, altos níveis de ADA se relacionam a uma piora no controle da Diabetes, porém a diminuição da ADA2 se correlacionou com melhora nos níveis glicêmicos e na redução de hospitalizações (HOSHINO *et al.*, 1994). Assim o exercício desponta como regulador da DM através da diminuição da concentração da ADA.

5 Conclusão

Foi possível concluir que o protocolo de treinamento concorrente aplicado gerou mudanças significativas no sistema purinérgico em linfócitos de mulheres com DM2, principalmente relacionado as enzimas desse sistema (NTPDase e ADA). Foi observado também uma melhora na glicemia capilar, mas sem diminuição de peso e IMC, mostrando uma melhora da inflamação independente da diminuição do tecido adiposo. Nesse sentido, o protocolo de treinamento concorrente pode ser uma nova estratégia terapêutica para o controle da DM2 não farmacologicamente, o que pode ampliar a adesão e a eficácia do tratamento.

Referências Bibliográficas

AMERICAN COLLEGE SPORTS AND MEDICINE. **Manual do ACSM para avaliação física relacionada à saúde**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. BRASIL. Ministério da Saúde. Guia alimentar: como ter uma alimentação saudável. Ed. 1, Brasília, 2013. https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_alimentacao_saudavel.pdf.

Acesso em 15 de Março de 2021.

BURNSTOCK, Geoffrey; NOVAK, Ivana. Purinergic signalling and diabetes. **Purinergic Signalling**, v. 9, n. 3, p.307-324, 2013. FILIPPINI, Antonio et al. Ecto-ATPase activity in cytolytic T-lymphocytes. Protection from the cytolytic effects of extracellular ATP. **The**

Journal of Biological Chemistry, v. 265, n. 1, p. 334–340, 5 jan. 1990. FOTINO, Carmen; DAL BEM, Diego; ADINOLFI, Elena. Emerging Roles of Purinergic Signaling in Diabetes. **Medicinal Chemistry**, v.14, n.5, p.428-438, 2018. GARCIA-HERNANDEZ, Mariana H. et al. Expression and function of P2X(7) receptor and CD39/Entpd1 in patients with type 2 diabetes and their association with biochemical parameters. **Cellular Immunology**, v. 296, n.2, p.135-143, 2011. GUZMAN-FLORES, Juan M. et al. Expression of CD73 and A2A receptors in cells from subjects with obesity and type 2 diabetes mellitus. **Immunobiology**, v. 220, n. 8, p. 976–984, ago. 2015. HOSHINO, Tomoaki et al. Elevated adenosine deaminase activity in the serum of patients with diabetes mellitus. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 25, n. 2, p. 97–102, set. 1994. INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. IDF DIABETES ATLAS. 9. ed. Bruxelas, Bélgica: International Diabetes Federation, 2019. JUNGER, Wolfgang G. Immune cell regulation by autocrine purinergic signalling. **Nature Reviews. Immunology**, v. 11, n. 3, p. 201–212, mar. 2011. KAMINSKY, L. A. (ED.). **Manual do ACSM para avaliação da aptidão física relacionada à saúde**. Terceira edição ed. São Paulo: Grupo Gen - Guanabara Koogan, 2011. LARIJANI, Bagher. et al. Diagnostic Value of Adenosine Deaminase and Its Isoforms in Type II Diabetes Mellitus. **Enzyme Research**, v. 2016, p. 9526593, 2016. LIMA, L. P. et al. Cardiorespiratory fitness assessment and prediction of peak oxygen consumption by Incremental Shuttle Walking Test in healthy women. **PloS One**, v. 14, n. 2, p. e0211327, 2019. LONTCHI-YIMAGOU, Eric et al. Diabetes mellitus and inflammation. **Current diabetes reports**, v. 13, n. 3, p. 435-444, 2013. MENDES, Romeu et al. Exercise prescription for patients with type 2 diabetes-a synthesis of international recommendations: narrative review. **British Journal of Sports Medicine**, v. 50, n.22, p.1379-1381, 2016. NAKANO, m. m. **Versão brasileira da short physical performance battery – sppb: adaptação cultural e estudo da confiabilidade**. Campinas, SP: Universidade Estadual de Campinas, 2007. PEREIRA, Aline da S. et al. Effect of gallic acid on purinergic signaling in lymphocytes, platelets, and serum of diabetic rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.101, p.30-36, 2018. PULTE, E. Dianne et al. CD39/NTPDase-1 activity and expression in normal leukocytes. **Thrombosis Research**, v. 121, n. 3, p. 309–317, 1 jan. 2007. VAN POPPEL, Pleun CM. et al. The interleukin-1 receptor antagonist anakinra improves first-phase insulin secretion and insulinogenic index in subjects with impaired glucose tolerance. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 16, n.12, p.1269-1273, 2014. WILLIAMS, Rhys et al. Global and regional estimates and projections of



diabetes-related health expenditure: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 162, p. 108072, abr. 2020. WU, Hong et al. P2X7 Receptor Expression in Peripheral Blood Monocytes Is Correlated With Plasma C-Reactive Protein and Cytokine Levels in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus: a Preliminary Report. **Inflammation**, v. 38, n. 6, p. 2076–2081, dez. 2015.

Palavras-chave: Sistema Purinérgico; Diabetes Mellitus; Inflamação; Linfócitos

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2021-0349

Financiamento: UFFS