

EVERSON ARAÚJO NUNES

**EFEITO DO TREINAMENTO DE SALTOS E DA SUPLEMENTAÇÃO COM
β-HIDROXI-β-METILBUTIRATO (HMB) SOBRE O CRESCIMENTO TUMORAL,
CAQUEXIA E PARÂMETROS IMUNITÁRIOS DE RATOS PORTADORES DO
TUMOR DE WALKER 256**

CURITIBA

2005

EVERSON ARAÚJO NUNES

**EFEITO DO TREINAMENTO DE SALTOS E DA SUPLEMENTAÇÃO COM
β-HIDROXI-β-METILBUTIRATO (HMB) SOBRE O CRESCIMENTO TUMORAL,
CAQUEXIA E PARÂMETROS IMUNITÁRIOS DE RATOS PORTADORES DO
TUMOR DE WALKER 256**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Área de Concentração Fisiologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Cláudio Fernandes

CURITIBA

2005

AGRADECIMENTOS

Primeiramente ao meu grande amigo Prof^o Dr. Luiz Cláudio Fernandes. Talvez você nem faça idéia... mas a primeira aula que tive com você mudou em muito a trajetória da minha vida acadêmica e abriu a possibilidade de estudar e trabalhar com que realmente gosto. Tenho certeza que não só eu, mas a maioria das pessoas que te conhecem de verdade admiram seu profissionalismo e o tamanho de seu coração. Chefe! Obrigado por toda confiança, apoio e luz que sempre me deu...

Aos meus pais (Eliane e José) e irmãos (Jaelson e Francelize) por toda segurança e apoio que sempre me passaram em todos os caminhos que decidi seguir até agora... Sem a ajuda de vocês tudo seria muito mais difícil.

Aos amigos do laboratório:

O pessoal do treinamento: Carine, Cristina, Gleisson, Heloísa e Luciele (Acho que não preciso nem falar o quanto tenho a agradecer a vocês... ... acho que preciso sim... MUITO OBRIGADO!... só quem treina ratos sabe como essa vida de pesquisador (praticamente adestrador) pode ser entediante ...)

Ao pessoal do lab em geral: Ricardo (Rica), Júlia (Jú), Claudinha, Nathália, Rogéria (Rógers), Sandro, Heloísa (Loli), Evelise, Maressa, Mariana, Dalva, Vanessa, Fernanda, André, Prof^a Dr^a Anita, Alberto, Sérgio, Norton, Diogo e outros que passaram pelo lab ou que estão entrando agora...

Obrigado por tudo que me ensinaram e ajudaram a construir.... Podem ter certeza que serei sempre grato a vocês....

Aos mais que amigos Ricardo (Rica Chairs) e Maurício (Mau) por todo tipo de ajuda que sempre me deram, pela confiança depositada em mim e por todos os momentos de descontração dentro ou fora do lab... também não posso esquecer de agradecer as suas respectivas esposas, Aldri e Áquila por agüentarem esses dois...

Aos professores Francisco Navarro e Sílvio M. Zanatta pela paciência e atenção na leitura da dissertação e críticas ao trabalho.

Aos funcionários do biotério e UFPR em geral

A todos os ratos que me auxiliaram na realização todos os trabalhos até hoje, sem eles não existiria progresso algum...

E finalmente a todas as pessoas que de alguma forma dividiram algum momento comigo durante todo meu caminho até aqui...

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE ABREVIATURAS	5
LISTA DE ILUSTRAÇÕES e QUADROS	7
RESUMO	8
ABSTRACT	9
1- INTRODUÇÃO	10
2- JUSTIFICATIVA	33
3- OBJETIVOS	35
4- MATERIAIS E MÉTODOS	36
5- RESULTADOS	46
6- DISCUSSÃO	71
7- CONCLUSÃO	87
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88

LISTA DE ABREVIATURAS

AA: Ácido aracdônico

AIDS: Síndrome da imunodeficiência adquirida

ATP: Adenosina trifosfato

Cdk: Ciclina dependente de quinase

ConA: Concanvalina A

COX-2: Clclooxigenase-2

DMSO: Dimetilsulfóxido

EDL: Músculo extensor longo do dedo

eIFs: Fatores eucarióticos de iniciação

EPA: Ácido Eicosapentaenóico

EPM: erro padrão da média

GH: Hormônio do crescimento

GPRs: Receptores acoplados a proteína G

H₂O₂: Peróxido de Hidrogênio

HDL: Lipoproteína de alta densidade

HETE: Ácido hidroxieicosatetraenóico

HMB: β -hidroxi- β -metilbutirato

IFN- γ : Interferon- γ

IGF-I: Fator de crescimento parecido com a insulina - I

I κ B α : Inibidor do fator nuclear κ B

IL: Interleucina

KIC: α -cetoisocaproato

LDh: Lactato desidrogenase

LDL: Lipoproteína de baixa densidade

LPL: Lipase lipoproteica

LPS: Lipopolissacarídeo

MGF: *Mechano Growth Factor*

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato, forma reduzida, oxidase

NBT: Nitroblue tetrazolium

NF- κ B: Fator Nuclear κ B

NK: *Natural killer*

PBS: Tampão fosfato salino

PDGF: Fator de crescimento derivado de plaquetas

PG: Prostaglandina

PIF: Fator Indutor de Proteólise

PKC α : Proteína quinase C alfa

PMA: Éster de forbol miristato acetato

PMN: Células polimorfonucleares sanguíneas

ROS: Espécies reativas de oxigênio

TAGs: Triacilgliceróis

TCA: Ácido tricloroacético

TEA: Trietanolamina

TGF- β : Fator transformante de crescimento- β

TNF- α : Fator de necrose tumoral α

VEGF: Fator de crescimento endotelial de vasos

VLDL: Lipoproteína de densidade muito baixa

LISTA DE ILUSTRAÇÕES e QUADROS

- FIGURA 1** – Sistema proteossoma ubiquitina-ATP dependente
- FIGURA 2** – Regulação do sistema proteossoma ubiquitina-ATP dependente por citocinas e fatores de transcrição (TISDALE, 2000).
- FIGURA 3** – Metabolismo protéico muscular no indivíduo caquético
- FIGURA 4** – Integrinas e outras proteínas nas cascatas de sinalizações desencadeadas pela aplicação de sobrecarga à célula muscular.
- FIGURA 5** – Estrutura do β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB, Leucina, e α -cetoisocaproato (KIC) em mamíferos.
- FIGURA 6** – Percentual de variação do peso corpóreo
- FIGURA 7** – Peso dos tumores (g)
- FIGURA 8** – Taxa de proliferação (cpm) das células do tumor de Walker 256
- FIGURA 9** – Peso do baço
- FIGURA 10** – Conteúdo de glicogênio hepático
- FIGURA 11** – Conteúdo de glicogênio da porção branca do músculo gastrocnêmio
- FIGURA 12** – Conteúdo de glicogênio no músculo sóleo
- FIGURA 13** – Glicemia (mg/dL)
- FIGURA 14** – Concentração de lactato sérico (mmol/L)
- FIGURA 15** – Concentração de Triacilglicerol sérico (mg/dL)
- FIGURA 16** – Colesterol sérico total (mg/dL)
- FIGURA 17** – Colesterol HDL plasmático (mg/dL)
- FIGURA 18** – Concentração de colesterol VLDL plasmáticos (mg/dL)
- FIGURA 19** – Concentração de colesterol LDL (mg/dL)
- FIGURA 20** – Capacidade Fagocítica de Células Polimorfonucleares
- FIGURA 21** – Volume Lisossomal de Células Polimorfonucleares
- FIGURA 22** – Produção de ânion superóxido pelas Células Polimorfonucleares
- FIGURA 23** – Produção de peróxido de hidrogênio pelas Células Polimorfonucleares
- FIGURA 24** – Capacidade Fagocítica dos Macrófagos Peritoneais
- FIGURA 25** – Volume Lisossomal dos Macrófagos Peritoneais
- FIGURA 26** – Produção de ânion superóxido pelos Macrófagos Peritoneais
- FIGURA 27** – Produção de Peróxido de Hidrogênio pelos Macrófagos Peritoneais
- FIGURA 28** – Representação esquemática do eixo neuroimunoendócrino
- FIGURA 29** – Resposta imunitária decorrente da presença do tumor.
- FIGURA 30** – Curva em forma de J proveniente da relação entre o nível de atividade física e a resposta imunitária
- FIGURA 31** – Diferenciação das funções efetoras das subpopulações de linfócitos T CD4+ (Th1 e Th2).
- FIGURA 32** – Representação das fórmulas estruturais planas das moléculas de HMB e butirato.
- QUADRO 1** – Peso dos indivíduos antes e 15 dias após a inoculação do tumor, peso dos tumores ao final de 15 dias e ganho de peso no mesmo período.
- QUADRO 2** – Conteúdo de Glicogênio Hepático e Muscular (μ mol/g de tecido) dos grupos experimentais.
- QUADRO 3** – Resumo dos dados Séricos: Glicemia, Lactato, TAGs e Frações do Colesterol.
- QUADRO 4** – Resumo dos dados funcionais das células polimorfonucleares
- QUADRO 5** – Resumo dos dados funcionais dos macrófagos peritoneais

RESUMO

A prática regular de atividade física tem sido relacionada à melhora dos parâmetros ligados a saúde bem como ao auxílio no tratamento e prevenção de várias doenças, entre elas o diabetes, doenças cardiovasculares e mais recentemente, o câncer. Contudo, os efeitos do treinamento de força, em indivíduos com câncer, ainda não foram bem estudados. Cerca de 20-70% dos pacientes com câncer desenvolvem a síndrome da caquexia, a qual é caracterizada por alterações no metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas e ainda, está relacionada à perda de massa muscular esquelética e adiposa, sintomas estes ligados a prognósticos desfavoráveis. Além disso, esta síndrome promove disfunções no eixo neuroimunoendócrino. O efeito da suplementação com o metabólito da leucina β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB), 76 mg/kg/dia via gavagem, aliada ao treinamento resistido foi investigado em ratos Wistar portadores do tumor de Walker 256. Cinquenta e seis ratos foram divididos em 8 grupos: Sedentário (S), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB (SH), Sedentário portador de tumor suplementado com HMB (SHW), Exercitado (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado suplementado (EXH) e Exercitado portador de tumor suplementado com HMB (EXHW). O treinamento consistiu na realização de 10 séries de saltos (com sobrecarga relativa a 50% do peso corporal acoplada ao tronco) por dia, com duração de 30 segundos cada e intervalos de 1 minuto entre as séries, 4 vezes por semana durante 8 semanas. Após 6 semanas treinamento foi injetado 1 mL de suspensão de células do tumor de Walker 256 (3×10^7 células) nos indivíduos dos grupos com tumor. A ortotanásia foi realizada 15 dias após a inoculação, seguida de coleta de sangue e amostras de vários tecidos. O grupo SW apresentou hipoglicemia ($72 \pm 6,70$ mg/dL), hiperlaticidemia ($1,50 \pm 0,13$ mmol/L), conteúdo de glicogênio hepático ($67,83 \pm 3,49$ μ mol/g de tecido) e muscular (gastrocnêmio - $10,09 \pm 1,03$ μ mol/g de tecido; sóleo - $16,53 \pm 1,20$ μ mol/g de tecido) reduzido, entre outros. Nos grupos SHW, EXW e EXHW não houve modificações nesses parâmetros quando comparados aos do grupo S, com exceção das concentrações de colesterol total e lipoproteínas do tipo HDL, LDL e VLDL. Em adição, foi observado redução significativa do crescimento tumoral nos grupos SHW, EXW e EXWH (peso médio do tumor = 10g) quando comparado ao do grupo SW ($16,8 \pm 1,35$ g). A capacidade fagocítica e citotóxica de macrófagos peritoneais e células polimorfonucleares sanguíneas (PMN) estava aumentada nos grupos com tumor assim como nos ratos dos grupos SH, EX e EXH. Este efeito sobre o sistema imunitário (SI) pode ser responsável pela diminuição do crescimento tumoral nos grupos SHW, EXW e EXHW. Contudo, nos grupos suplementados portadores de tumor (SHW e EXHW) pode ter havido efeito direto do HMB sobre o desenvolvimento tumoral. A prática de exercício de força, utilizando o modelo de treinamento de saltos em piscina, e a suplementação de HMB foram eficazes em induzir a redução da taxa de crescimento tumoral e o aparecimento dos sintomas da caquexia, quando realizados em associação ou de forma isolada. Os mecanismos que desencadearam estes efeitos podem estar relacionados às modificações funcionais no SI providas da prática do exercício ou suplementação, e/ou ainda, pela ação direta do HMB sobre as células do tumor de Walker 256.

ABSTRACT

Cachexia is a disturbance accompanying various pathophysiological conditions, such as sepsis, AIDS, diabetes and cancer. It is a syndrome characterized by changes in the carbohydrate, fat and protein metabolism modulated by neuroimmunoendocrine axis, leading to progressive body weight loss as a result of fat and lean body mass depletion. Progressive body weight loss is linked to anti-cancer therapy inefficacy and poor prognosis. Regular exercise has been widely believed to have a protective and therapeutic aid in the treatment of some diseases such as cancer. Among exercise types the resistance exercise effects on cachexia development and tumor growth are poorly known. This study aimed to investigate the effects of resistance training and supplementation of leucine metabolite β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB)(76 mg/kg/day) on tumor growth, cachexia and immunological parameters in Walker 256 tumor-bearing rats. The animals were divided into 8 groups: sedentary (S), sedentary tumor-bearing (SW), sedentary supplemented (SH), sedentary tumor-bearing supplemented (SHW), exercised (EX), exercised tumor-bearing (EXW), exercised supplemented (EXH) and exercised tumor-bearing supplemented (EXHW). Training session consisted of 10 bouts, 30 seconds each with 50% body-weight load attached to the back followed by 1 minute of resting, 4 times a week during 8 weeks. A suspension of Walker 256 tumor cells (1mL of 3×10^7 cells/mL) was injected in the rats (tumor-bearing) after 6 weeks of training. All individuals were killed 15 days post tumor inoculation and the blood, tissue and cells were harvested. The SW group showed hypoglycemia ($72 \pm 6,70$ mg/dL), hyperlactacidemia ($1,50 \pm 0,13$ mmol/L), with reduced hepatic ($67,83 \pm 3,49$ μ mol/g of tissue) and muscular (gastrocnemium - $10,09 \pm 1,03$ μ mol/g of tissue; soleus - $16,53 \pm 1,20$ μ mol/g of tissue) glycogen content characterizing a cachectic state. There were no modifications in these parameters for SHW, EXW and EXHW groups when compared to S group, except in lipidemic parameters. Also, there was an expressive reduction of the tumor growth in the SHW, EXW and EXHW (mean tumor weight = 10g) vs $16,8 \pm 1,35$ g in SW group. Phagocytic and cytotoxic capacity of peritoneal macrophages and polymorphonuclear blood cells (BPMN) increased in the tumor-bearing groups as well as in the SH, EX and EXH. These effects on immune system (SI) might be responsible for tumor growth reduction observed in SHW, EXW and EXHW groups. In the supplemented tumor-bearing groups (SHW and EXHW) we also observed tumor reduction which we hypothesize a possible direct effect of HMB in tumor tissue. In summary, our results show that in the resistance exercise model used, swimming pool jump based, and the HMB supplementation were able to reduce tumor growth rate and cachexia development, either together or sole. The mechanisms responsible for these results could be related to functional SI modifications provided by exercise activity or supplementation, and/or HMB direct action in Walker 256 tumor cells.

1 – INTRODUÇÃO

Pacientes com câncer podem desenvolver fadiga, náuseas, depressão, atrofia muscular, diminuição da capacidade aeróbia, diminuição da força e flexibilidade, e perda de massa muscular. Estes são fatores que levam a um grande decréscimo da qualidade de vida (COURNEYA; FRIEDENREICH, 1997).

A caquexia é o termo utilizado para denominar o estado caótico, do portador de tumor, caracterizado por um conjunto de aspectos e sintomas presentes em até dois terços de indivíduos que morrem de câncer (ARGILÉS et al., 1999). A debilidade e perda de peso muito acentuada estão correlacionadas com a redução da eficácia das terapias anticâncer (TISDALE, 2000). Em adição, a perda muscular avançada pode comprometer as funções cardíacas e respiratórias (ARGILÉS et al., 1999; TISDALE, 2000). Por estas razões, intervenções que preservem a massa muscular têm implicações clínicas importantes em relação à melhora do prognóstico e qualidade de vida dos pacientes caquéticos (AL-MAJID; McCARTHY, 2001a).

Os mecanismos específicos que induzem a perda de tecido muscular pelo câncer, não são totalmente conhecidos, contudo evidências recentes sugerem que a liberação de várias citocinas pró-inflamatórias e ativação de vias proteolíticas, dentro das células musculares, participam deste processo (ARGILÉS; LOPES-SORIANO, 1999; TISDALE, 2000). A ativação destes fatores leva a alterações no metabolismo protéico muscular, acarretando em aumento da degradação e diminuição da síntese protéica, resultando em balanço nitrogenado negativo (AL-MAJID; McCARTHY, 2001a).

Intervenções como suporte nutricional, com calorias em excesso, e estimuladores de apetite, têm demonstrado pouca influência sobre a perda de tecido muscular em indivíduos com caquexia, levando, principalmente, ao aumento do acúmulo de água e da gordura corporal (EVANS et al., 1985).

Estudos mostram que pacientes que se exercitam como parte de seu tratamento e reabilitação, podem melhorar a capacidade aeróbia, velocidade e distância de caminhada, força muscular, composição corporal, reduzir a náusea e fadiga, auxiliando no bem estar do indivíduo (DIMEO et al., 1997; DIMEO et al., 1998; SCHWARTZ et al., 2001; BURNHAM; WILCOX, 2002). Seguindo esta linha, pesquisas recentes demonstraram que o treinamento de força pode ter efeitos positivos sobre vários fatores de risco que estão associados a doenças como: câncer,

diabetes e doenças cardíacas (COSTA ROSA, 2004). Entre estes efeitos estão às diminuições da gordura corporal, da pressão média sangüínea, do tempo de transição do alimento pelo trato gastrintestinal e aumento da sensibilidade à insulina (WINETT; CARPINELLI, 2001). É sabido que o exercício de força tem capacidade de aumentar a massa muscular em indivíduos saudáveis, tanto em humanos (JURIMAE et al., 1996; POWERS; HOWLEY, 2000; WILMORE; COSTILL, 2001; ROBERGS; ROBERTS, 2002), quanto em animais (TAMAKI; SHUICHI; NAKANO, 1992). Além destas observações, o treinamento de força também contribui para a diminuição da perda de tecido muscular que se manifesta na idade avançada (YARASHESKI et al., 1999; GREIWE et al., 2001), na síndrome da imunodeficiência adquirida (WAGNER; RABKIN; RABKIN, 1998; SATTER et al., 1999), na atrofia por desuso (LINDERMAN et al., 1994; FERRANDO et al., 1997) e possivelmente no câncer (AL-MAJID; McCARTHY, 2001a). Esse tipo de exercício é definido pela execução de múltiplas, porém poucas, contrações musculares, estáticas ou dinâmicas, proferidas contra uma alta resistência ou sobrecarga (EVANS; ROUBENOFF; SHEVTZ, 1998).

Na última década várias substâncias vêm sendo utilizadas por atletas e praticantes de atividade física com o intuito de aumento de massa muscular esquelética (NISSEN; SHARP, 2002). Dentre essas, uma substância denominada β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) vem ganhando grande atenção por parte da comunidade científica e leiga, por promover ganho de massa muscular, diminuir a gordura corporal e melhorar alguns parâmetros da resposta imunitária (NISSEN; ABUMRAD, 1997). No entanto, existe pouca informação sobre a ação deste composto sobre o metabolismo e função dos diferentes tipos celulares e menos ainda sobre o efeito da suplementação de HMB em situações patológicas como o câncer.

1.1 – Câncer

O câncer está relacionado com distúrbios das regras fundamentais do comportamento celular nos organismos multicelulares. Células cancerosas podem reproduzir-se em detrimento das normais e em alguns casos invadir e colonizar tecidos, normalmente, reservados para outras células (ALBERTS et al., 2000). Acredita-se que, o câncer possa ser produto de várias mutações somáticas acumuladas numa única célula, produzindo mudanças em seu padrão de expressão gênica ou diretamente na seqüência de DNA, onde ambas as causas levam a célula

ao descontrole do ciclo celular. A progênie de apenas uma célula mutada herda as mutações e origina um tumor com capacidade ilimitada de crescimento. As mutações que produzem células cancerosas afetam duas grandes classes de genes: 1^a) genes de proliferação, conhecidos como proto-oncogenes, que codificam proteínas que normalmente auxiliam na divisão celular; 2^a) genes anti-proliferação, conhecidos como genes supressores tumorais, que codificam proteínas que normalmente auxiliam na inibição da divisão celular. A mutação em um proto-oncogene provoca a superexpressão ou hiper-atividade da proteína por ele codificada, resultando em multiplicação celular excessiva; o gene mutante é então classificado como oncogene. Proliferação celular excessiva também será o resultado de mutações que inativem um gene supressor tumoral, por liberar a célula de restrições normais da multiplicação celular. Em uma célula diplóide normal existem duas cópias de cada gene supressor tumoral e ambas devem ser inativadas para que haja perda do controle da proliferação, pois uma única cópia é geralmente suficiente para a regulação normal do ciclo celular. Ao contrário, apenas uma cópia de um proto-oncogene precisa ser mutada em um oncogene para que ocorra efeito semelhante (ALBERTS et al., 2000).

Alguns tumores podem competir com o hospedeiro por nutrientes, provocando diferentes manifestações clínicas, as mais comuns são: astenia, anorexia, perda de peso, saciedade prematura e anemia (THEOLOGIDES, 1979). Assim, o desenvolvimento tumoral pode induzir a debilidade do organismo hospedeiro, denominada síndrome da caquexia (THEOLOGIDES, 1979; MacDONALD et al., 2003).

1.2 – Caquexia

Pacientes com câncer podem apresentar uma síndrome denominada caquexia. Esta tem grau de incidência de 20% a 70%, dependendo do tipo de tumor existente. (ARGILÉS et al., 1999). A caquexia caracteriza-se por estado debilitante onde ocorre perda involuntária de peso, desencadeada por desbalanço metabólico no indivíduo portador de tumor (TISDALE, 1997; ARGILÉS et al., 1999). No geral, indivíduos com tumores sólidos apresentam caquexia com maior frequência, sendo mais comum em indivíduos muito jovens ou velhos, tornando-se mais pronunciada com o progredir da doença (BRUERA, 1997).

Dentre as alterações metabólicas estão o catabolismo intenso dos depósitos de carboidratos, lipídios e proteínas. Anormalidades no metabolismo de carboidratos em pacientes portadores de tumores incluem relativa intolerância à glicose, resistência periférica à insulina, gliconeogênese hepática aumentada e elevada atividade do ciclo de Cori (HOLROYDE; REICHARDT, 1981). Um dos fatores relacionados a estes desequilíbrios é a observação de altas taxas de consumo de glicose, pela via anaeróbia, apresentada pela maioria dos tumores (ARGILÉS et al., 1997). Desta maneira, é comum observar alta lactacidemia em portadores de tumor (HEBER; BYERLY; CHLEBOWSKI, 1985; WATERHOUSE, 1974). O lactato é então convertido em glicose no fígado do hospedeiro na tentativa de manutenção do nível sérico deste substrato. Assim, o tumor torna-se o maior consumidor de glicose, enquanto o portador é estimulado a fabricá-la. Este mecanismo conhecido como ciclo de Cori, encontra-se aumentado e pode representar um prejuízo energético de 300 Kcal/dia para o portador de tumor (EDEN, 1984).

Observa-se, na síndrome da caquexia induzida pelo tumor, intenso catabolismo protéico dos músculos esqueléticos, os quais detêm praticamente a metade da massa protéica corpórea (TISDALE, 1997; MAY et al., 2002). Fisiologicamente, durante o jejum, aminoácidos são mobilizados do músculo esquelético para o fígado, sendo substratos para a gliconeogênese. A redução muito prolongada da ingestão alimentar leva a diminuição da degradação das proteínas musculares, evitando desequilíbrio de nitrogênio e depleção muscular. Esse mecanismo de conservação de nitrogênio está ausente em indivíduos portadores de câncer que desenvolvem caquexia, produzindo balanço negativo de nitrogênio, cujos fatores responsáveis não são completamente conhecidos (ARGILÉS et al. 1997).

A redução dos estoques de lipídios e a hiperlipidemia, observadas em pacientes portadores de tumor, podem ser resultados do aumento da atividade lipolítica, liberando glicerol para a gliconeogênese hepática e ácidos graxos para serem utilizados como substrato alternativo à glicose pelos tecidos periféricos (THOMPSON et al., 1981). A diminuição da atividade da lipase lipoproteica (LPL) acarreta em hipertriacilgliceridemia e compromete a absorção de lipídeos pelos tecidos adiposo e muscular (THOMPSON et al., 1981; NOGUCHI et al., 1996). A menor atividade das enzimas-chave da lipogênese, como a acetil-CoA carboxilase, observada em indivíduos portadores de tumor (TORTI et al., 1985), leva a impossibilidade de sintetizar ácido graxo, “de novo”.

Portanto, o intenso quadro catabólico que se instala no indivíduo portador de tumor, debilitando-o e reduzindo suas perspectivas de recuperação, não é causado apenas por má nutrição, mas também pelas alterações no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos que ocorrem devido ao aumento da demanda energética gerada pela presença do tumor. Isto é conseguido pela ativação do mecanismo hepático compensatório (gliconeogênese) para manutenção plasmática de substratos energéticos para o hospedeiro, os quais são captados pelo tecido tumoral. Participam também no desenvolvimento deste quadro a hipoinsulinemia, aumento da concentração de citocinas e dos hormônios contrarreguladores: cortisol, glucagon e catecolaminas (ARGILÉS et al, 1997; FERNANDES et al. 1991; FERNANDES et al. 1990). Assim, o combate aos efeitos danosos da caquexia induzida pelo tumor requer terapia alternativa, antagonizando essas alterações metabólicas (TISDALE, 1997).

1.3 – Anorexia

Pacientes com câncer freqüentemente apresentam decréscimo nas sensações de paladar e olfato, o que leva ao aumento no limiar da sensação para o doce e diminuição no limiar para o amargo (DE WYS; WALKERS, 1975). Estas características vêm acompanhadas pela diminuição da sensação de fome, saciedade prematura e conseqüentemente diminuição da ingestão alimentar. Todos estes sintomas reunidos caracterizam o estado denominado anorexia (MOLEY, 2001; TISDALE, 2001).

Indivíduos com câncer podem, freqüentemente, sofrer obstruções do trato gastrointestinal, apresentam dor, depressão, constipação, debilidade, má-absorção ou os efeitos do tratamento com opióides, radioterapia ou quimioterapia, os quais podem diminuir a ingestão alimentar. No entanto, existe grande número de pacientes com câncer avançado, nos quais não existe causa clínica óbvia para a diminuição da ingestão alimentar e nestes indivíduos acredita-se que alguns aspectos da interação tumor-hospedeiro devam ser levados em consideração (BARBER, 1999). A anorexia, em animais portadores de tumor, pode ser causada por disfunção no sistema adenilato ciclase nas membranas das células hipotalâmicas (CHANCE et al., 1995), pois a injeção intra hipotalâmica de neuropeptídeo-Y, potente estimulador da sensação de fome (KING; WILLIAMS, 1998), não estimula muito a ingestão

alimentar, nestes animais, quando comparados aos controles sem tumor (CHANCE et. al., 1996). Esta observação sugere que o sistema de sinalização pós-sináptica via neuropeptídeo-Y está alterado em ratos portadores de tumor. Somado a isto, a quantidade ou a liberação de neuropeptídeo-Y, pelos núcleos paraventriculares e hipotálamo, também está diminuída nestes animais (CHANCE et. al., 1994).

Segundo DUNLOP; CAMPBELL (2000), citocinas tais como fator de necrose tumoral (TNF- α), interleucina-1 (IL-1) e interleucina-6 (IL-6) podem estar envolvidas na anorexia, pois interagem com os centros controladores da fome no hipotálamo, estimulando a liberação de substâncias supressoras de apetite e diminuindo a liberação de estimuladores, como o neuropeptídeo-Y. A infusão de IL-1, em ratos sem tumor, causa mudanças na ingestão alimentar, no número de refeições e tamanho das refeições similares às aquelas observadas na anorexia causada pelo câncer (LAVIANO et al., 1996). Em ratos, a inibição da produção da prostaglandina-E₂ (PGE₂) pela administração de ibuprofeno, bloqueia totalmente o efeito anoréxico da IL-1 (HELLERSTEIN et al., 1989).

Muitas evidências sugerem que a anorexia seja contribuidora para a perda de tecido muscular esquelético, mas outras alterações como no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas parecem ter participação muito maior (TISDALE, 2001).

1.4 - Sistema imunitário

O sistema imunitário atua na proteção do indivíduo contra infecções. Funcionalmente esse sistema está dividido em sistema inato e adaptativo. As células que constituem o sistema imunitário se originam na medula óssea e são denominadas, genericamente, de leucócitos. Estes podem ser divididos em duas categorias: os fagócitos (granulócitos – neutrófilos, basófilos, eosinófilos – monócitos e macrófagos) e os linfócitos. A comunicação entre o sistema inato e adaptativo pode ocorrer pelo contato direto célula-célula e/ou pela liberação de mensageiros químicos (JANEWAY et al., 2000; CALDER, 2001).

1.4.1 - Características gerais dos fagócitos (Macrófagos e Neutrófilos)

1.4.1.1 - Macrófagos

Os macrófagos estão extensamente distribuídos pelo corpo, mostrando grande variedade estrutural e heterogeneidade funcional. As células precursoras dos macrófagos originam-se na medula óssea, onde, mais tarde, se transformarão em monócitos no sangue periférico. Os macrófagos caracterizam-se por serem células grande, com forma irregular, medindo entre 10–80 μm de diâmetro, núcleo irregular e excentricamente posicionado, com 1 ou 2 nucléolos e cromatina dispersa. Apresentam complexo de Golgi bem desenvolvido, em posição justanuclear, número variável de vesículas de endocitose e grande número de mitocôndrias. A superfície apresenta-se irregular, com microvilos e o citoesqueleto bem desenvolvido, rodeando o núcleo e estendendo-se até a periferia da célula (CALDER, 1998; JANEWAY et al., 2000). Os macrófagos expressam grande quantidade de receptores de superfície, envolvidos nas interações desta célula com o ambiente e com o controle da sua atividade (crescimento, diferenciação, ativação, reconhecimento, endocitose e secreção). O pró-monócito ao dividir-se dá origem aos monócitos, que permanecem na medula óssea por aproximadamente 24 h, migrando posteriormente para a corrente sangüínea, na forma de monócitos circulantes, os quais permanecem na circulação por cerca de 70 h em humanos. Uma vez na circulação, o monócito migra para diferentes órgãos e cavidades do organismo (passando a denominar-se macrófago), tais como: fígado (células de K pffer), pulmão (macrófago alveolar), tecido conectivo (histiócitos), baço (macrófagos da polpa vermelha), linfonodos, timo, osso (osteoclasto), trato gastrintestinal, sistema nervoso central (micróglia), cavidade pleural, cavidade peritoneal e medula óssea (CALDER, 1998).

O macrófago desempenha papel importante no controle do desenvolvimento tumoral e passou a ser estudado a partir de observações de células infiltrantes em massas sólidas. Na vigência de tumores, o macrófago pode exercer seu papel tumoricida de três maneiras:

- a) Pela inibi o da divisão celular, através da libera o de diferentes mediadores (mecanismo independente de contato celular);
- b) De maneira mediada, dependente de contato, envolvendo a produ o de TNF e espécies reativas do oxigênio (ROS), como radical superóxido e peróxido de hidrogênio (KLIMP et al., 2002);
- c) Através de mecanismos de citotoxicidade celular dependente de anticorpos (TASHIRO, 1998).

A atividade do macrófago infiltrado na massa tumoral pode ser regulada por substâncias liberadas pelo tumor, capazes de reprimir a resposta desta célula. Outros estudos demonstram efeito facilitador do macrófago no desenvolvimento de certos tumores sólidos, através da liberação de fatores que favorecem a angiogênese, permitindo melhor aporte de nutrientes e oxigênio para o tecido tumoral (YOUNG et al., 1998; KLIMP et al., 2002). Os macrófagos são capazes de promover a angiogênese pela: a) secreção de enzimas proteolíticas que degradam a matriz extracelular, principalmente metaloproteases de matriz tipo 2 e 9 (MMP-2 e MMP-9) (HILDEBRAND et al., 1998); b) pela secreção de fatores de crescimento tais como: fator transformante de crescimento- β . (TGF- β *Transforming growth factor*), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF – *Platelet-derived growth factor*), fator de crescimento endotelial de vasos (VEGF – *Vascular endothelial growth factor*) e TNF- α (LEEK et al. 1996). Contudo, os macrófagos associados aos tumores também liberam substâncias como: interferons, angiostatina, fator plaquetário 4 e trombospondina, que inibem a angiogênese por inibir a proliferação de células endoteliais (SUNDERKOTTER, 1994).

1.4.1.2 - Neutrófilos

Os neutrófilos constituem 60% dos leucócitos circulantes. São os elementos mais numerosos e importantes da resposta inata, abundantes no sangue, mas ausente nos tecidos normais; são células de vida curta, sobrevivendo durante poucas horas após deixarem à medula óssea. Essas células possuem o núcleo lobulado, cromatina densa, sendo por isso também chamados de leucócitos polimorfonucleares, possuem de 9 a 12 μm de diâmetro (CURI et al., 1998). A resposta imunitária inata produz uma variedade de fatores que são quimiotáticos para os neutrófilos, fazendo com que eles emigrem rapidamente do sangue para penetrarem nos locais de infecção, onde constituem as células fagocíticas mais precocemente recrutadas. Uma vez no local inflamado são capazes de eliminar muitos patógenos, restos de tecidos, por meio da fagocitose, liberação de espécies reativas do oxigênio e do nitrogênio (FAURSCHOU; BORREGAARD, 2003). Este fenômeno está associado com o aumento, transitório, do consumo de oxigênio pelos neutrófilos, sendo chamado de “burst” respiratório. Uma das principais enzimas envolvidas neste processo é a NADPH oxidase, a qual pode ser ativada pelo ácido

araquidônico (AA). Em casos de infecção, a resposta inflamatória também envolve linfócitos, que efetuam resposta imunitária adaptativa, a qual é ativada via vasos linfáticos. A ativação dos linfócitos depende de forma crucial das interações com as células fagocíticas (JANEWAY et al., 2000).

1.4.2 – Citocinas

As citocinas são um grande grupo de glicoproteínas e peptídeos de baixo peso molecular que medeiam interações diretas entre células e regulam funções celulares e teciduais. As citocinas têm grande participação no desenvolvimento embrionário, no crescimento e maturação celular, em processos de cura e reparo, na modulação da resposta imunitária de fase aguda e na formação de novos vasos sanguíneos. Vários tipos celulares são capazes de liberar citocinas pelas vias secretoras, sendo que muitas citocinas são liberadas tanto na forma ativa como na forma de precursores inativos que requerem ativação; algumas se ligam a matriz extracelular (DUNLOP; CAMPBELL, 2000).

O sistema imunitário utiliza as citocinas para modular a resposta imunitária (REID; LI, 2001). Desta maneira a produção e liberação de citocinas é estritamente regulada, onde complexos *feedbacks* contra-regulatórios envolvendo outras citocinas são disparados, os quais têm a função de propiciar o retorno ao estado de homeostase. A expressão descontrolada de citocinas pode ocorrer em células que passaram por processos de transformação tornando-se malignas (DUNLOP; CAMPBELL, 2000).

As citocinas interagem com as células via receptores de alta afinidade, geralmente glicoproteínas, que estão localizadas na membrana celular ligadas a segundos mensageiros que podem acionar várias vias. As interações das citocinas podem ser: (1) intrácrina – a citocina e o receptor estão no interior da célula; (2) autócrina – a citocina produzida pela célula age em receptor de membrana da própria célula que a produziu; (3) parácrina – a citocina de um tipo celular interage com receptores de outros tipos celulares adjacentes. Isto pode envolver contato célula-célula, por citocinas ligadas à superfície da membrana. Formas solúveis irão difundir-se localmente para alcançar outras células. Se quantidades suficientes de citocinas são produzidas, elas podem ter efeito sistêmico. Os efeitos de qualquer citocina freqüentemente podem variar de acordo com sua concentração, com a presença de

outras citocinas, com o estado de desenvolvimento das células ou tecido alvo e do ambiente extracelular. Esta complexidade implica em análise cautelosa de estudos *in vitro* e *in vivo* (DUNLOP; CAMPBELL, 2000)

O exercício é capaz de alterar a função imunitária de indivíduos saudáveis, resposta esta que pode estar ligada a alterações nas concentrações de algumas citocinas (PEDERSEN et al., 2000; COLBERT et al. 2001; SUGIURA et al. 2002). Processos inflamatórios crônicos como: câncer e artrite, freqüentemente levam a alto grau de catabolismo muscular e perda funcional, conseqüências atribuídas à ação das citocinas circulantes. Mecanismos similares vêm sendo sugeridos na causa da caquexia e fraqueza observada em doenças sistêmicas como AIDS e sepsis (REID; LI, 2001).

1.5 - Quebra acentuada de proteínas e perda de tecido muscular

Em indivíduo sadio, existem mecanismos que regulam a quebra de proteínas musculares, no sentido de poupar os estoques de nitrogênio e preservar o tecido muscular, para que não exista perda funcional (BARACOS, 2001; TISDALE, 2001). Entre estes mecanismos estão: a diminuição do gasto energético basal e o aumento da oxidação de lipídios para obtenção de energia. Portadores de tumor, geralmente, não apresentam estas adaptações e continuam a utilizar suas proteínas musculares como fonte de aminoácidos para a gliconeogênese hepática em taxas elevadas (ARGILÉS et. al., 1997), como mencionado anteriormente.

São três as vias responsáveis pelo catabolismo das proteínas no músculo esquelético: o sistema lisossomal, o qual é responsável predominantemente pela quebra de proteínas extra celulares, como os receptores de membrana (LECKER et. al. 1999); o sistema citosólico ativado pelo cálcio independente de ATP, o qual pode representar papel importante na destruição tecidual, necrose e autólise (GOLL et. al., 1992); e o sistema ubiquitina-ATP dependente, o qual se acredita ser o responsável pela quebra do conjunto de proteínas intracelulares no músculo esquelético (LECKER et al. 1999). Estudos, de LORITE et. al. (1998), mostraram que o sistema proteossoma ubiquitina-ATP dependente é responsável pela perda de músculo esquelético em camundongos caquéticos. Neste sistema, proteínas são marcadas para degradação pela ligação com a ubiquitina, o que requer a atividade de três enzimas. A proteína poliubiquitinada é então degradada em um complexo formado

por multisubunidades, o proteossoma 26S, estrutura em forma de tubo constituído por quatro anéis, duas α nas extremidades e duas β na região central. O proteossoma libera pequenos oligopeptídeos contendo de seis a nove resíduos de aminoácidos que são rapidamente degradados a aminoácidos pelas peptidases citosólicas (TISDALE, 2000). Na FIGURA 1 está representado esquematicamente o funcionamento do sistema proteossoma ubiquitina-ATP dependente.

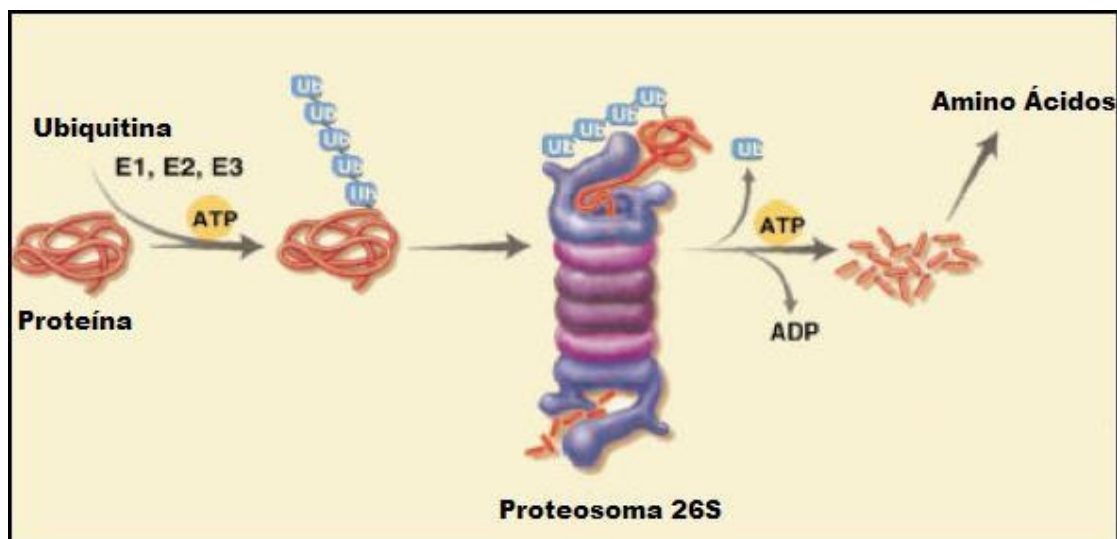


FIGURA 1 – Sistema proteossoma ubiquitina-ATP dependente

Quando a proteólise, por intermédio do sistema ubiquitina-proteossoma, está acelerada no músculo, geralmente há aumento paralelo da produção de mRNAs das enzimas desta via (LECKER et al., 1999). Inibindo a expressão de uma única subunidade do proteossoma, o número de proteossomas fica diminuído, bem como a atividade proteolítica e a degradação protéica (GRUNE et al. 1998). Citocinas como TNF- α , IL-1 e IFN- γ podem induzir a expressão do mRNA da ubiquitina em músculo esquelético de ratos (LLOVERA et al. 1998a; LLOVERA et al. 1998b). Além disso, o TNF- α quando administrado em conjunto com o interferon- γ (IFN- γ), ativa a transcrição do fator denominado NF- κ B (TISDALE, 2000). O NF- κ B inibe a expressão de outro fator o MyoD, o qual é essencial para a diferenciação das células musculares esqueléticas, para o reparo de tecidos danificados e também pode ser muito importante para a recuperação da musculatura debilitada (MEGENEY et al. 1996). A FIGURA 2 ilustra resumidamente estas interações.

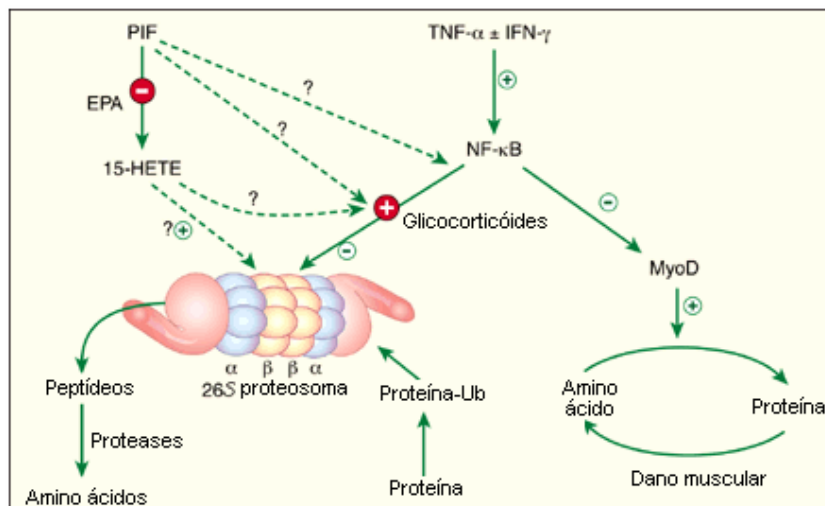


FIGURA 2 – Regulação do sistema proteossoma ubiquitina-ATP dependente por citocinas e fatores de transcrição (TISDALE, 2000).

Um fator que induz a proteólise muscular (PIF) foi isolado de indivíduos portadores do MAC-16, adenocarcinoma de roedores (TODOROV et. al. 1996). O mesmo PIF, produzido por este tumor, também foi encontrado na urina de pacientes com carcinoma de pâncreas, fígado, reto, cólon, mama, pulmão e ovário. Todos estes pacientes apresentavam perda de peso maior ou igual a 1 kg por mês (TODOROV; FIELD; TISDALE, 1999). Fatores tumorais como o PIF, aumentam a produção das subunidades do proteossoma 26S por aumentarem a expressão de um intermediário denominado ácido 15-hidroxi-eicosatetraenóico (15-HETE) (TISDALE, 2000), ação que pode ser reprimida pela administração de ácido eicosapentaenóico (EPA) (WHITEHOUSE et. al., 2001).

A fadiga generalizada é componente que pode ser visto como contribuidor, mas também como consequência da perda de tecido muscular. Atrofia muscular leva a astenia e fraqueza. Isto faz com que os indivíduos afetados apresentem baixo nível de atividade física. A inatividade muscular leva a maior descondicionamento muscular e atrofia por desuso, o que pode agravar a sensação de fadiga em pacientes com câncer (AL-MAJID; McCARTHY, 2001a).

1.6 - Síntese protéica diminuída

DWORZAK et al. (1998) e TISDALE (2001) advogam que a perda de tecido muscular em indivíduos caquéticos não está associada somente ao elevado índice de

catabolismo protéico. Estes mesmos autores propõem a existência de diminuição da taxa de síntese protéica no tecido muscular esquelético. Trabalhos como o de GUTTRIDGE et al. (2000) corroboram esta idéia, pois demonstraram que o TNF- α é potente ativador do NF-kB, o qual inibe a expressão de MyoD, que estimula o reparo celular e conseqüentemente, a síntese protéica.

Alguns indivíduos portadores de tumor podem apresentar resistência periférica à insulina (TAYEK, 1992), ou ainda diminuição da produção de insulina. Isto geralmente vem acompanhado de aumento dos hormônios contra-reguladores catabólicos como: catecolaminas, cortisol e glucagon (COSTELLI et al. 1999; BARACOS, 2001). Essa é uma situação que pode alterar o estado energético do músculo, e, segundo KIMBALL; FARREL; JEFFERSON (2002), concentrações reduzidas de ATP e creatina-fosfato podem diminuir a síntese protéica. A diminuição da atividade da enzima lipase-lipoprotéica (LPL), encontrada em indivíduos com câncer, pode contribuir para diminuição dos estoques energéticos musculares. Sem a atividade da LPL, a quebra dos lipídios plasmáticos fica prejudicada e desta maneira, o tecido muscular não consegue captar esse substrato, que poderia ser utilizado para produção de energia (VLASSARA et. al., 1986). ARGILÉS et al. (1997) relataram que o transporte de aminoácidos para dentro do músculo esquelético também está prejudicado durante o crescimento tumoral, pois está relacionado com sensibilidade à insulina. Segundo KIMBALL; FARREL; JEFFERSON (2002), existe necessidade de insulina e aminoácidos para que seja estimulada a iniciação da tradução, que é um passo determinante da síntese protéica no músculo esquelético.

Indivíduos com câncer apresentam altas concentrações séricas de IL-1, a qual bloqueia a liberação do hormônio luteinizante (LH) (KALRA et. al., 1998). Isto causa a diminuição das concentrações séricas de testosterona, o que diminui o anabolismo protéico muscular (MORLEY, 2001). Na figura 3 está representado o metabolismo protéico muscular no indivíduo caquético.

Desde 1980, estudos em humanos e animais têm demonstrado que o exercício tem alguns efeitos benéficos, quando praticados por indivíduos com câncer. Dentre estes efeitos, em modelos animais, foram identificados: inibição da tumorigênese (BARACOS, 1989), resistência à implantação do tumor, diminuição da taxa de crescimento tumoral, aparecimento de metástases (LEE, 1995) e aumento da síntese protéica muscular (AL-MAJID; McCARTHY, 2001b). Em humanos a prática de exercício demonstrou aumentar o consumo máximo de oxigênio (McVICAR et al., 1989), reduzir a sensação de náusea (WINNINGHAM; McVICAR et al., 1988), diminuir a depressão (SEGAR et al., 1998), aumentar a qualidade de vida (YOUNG-McCAUGHAN; SEXTON, 1991) e aumentar a força dos membros inferiores em mulheres (NIEMAN et al., 1995).

Alguns autores, como BACURAU et al. (2000), relataram que o efeito do exercício sobre a função do sistema imunitário deve ser levado em consideração, pois o exercício pode modular vários parâmetros da imunidade natural e adquirida (WOODS et al., 1999; FERRANDEZ; LA PUENTE, 1999; MASTRO et al., 1998). Esta importância é justificada pela participação das células do sistema imunitário, como linfócitos, macrófagos e neutrófilos na resposta contra tumorigênese (MacKINNON, 1997; SHEPARD; SHEK, 1995).

1.7.1 - Exercício aeróbio X Câncer

Quase que a totalidade dos trabalhos envolvendo exercício e indivíduos com câncer foram realizados utilizando-se protocolos de exercício aeróbio com intensidade baixa a moderada. Este tipo de exercício é definido como atividade muscular com alto número de repetições, proferidas por longos períodos, contra uma sobrecarga relativamente baixa (AL-MAJID; McCARTHY, 2001a), como a natação e a caminhada ou corrida em esteira. O exercício aeróbio tem a capacidade de aumentar a resistência muscular à fadiga, em indivíduos saudáveis, devido às adaptações musculares advindas deste tipo de estímulo. Dentre as adaptações estão: aumento do número de vasos sanguíneos musculares, aumento do número de mitocôndrias, aumento da atividade das enzimas mitocondriais, o que acarreta em melhora da capacidade oxidativa muscular (HOLLOSZY; COYLE, 1984; SPINA et al., 1996). Não se pode afirmar que os mecanismos responsáveis pela diminuição da sensação de fadiga, em pacientes com câncer praticantes de exercício aeróbio, é fruto das

mesmas modificações no metabolismo muscular, mas algumas evidências sugerem que isto seja verdadeiro (AL-MAJID; McCARTHY, 2001).

1.7.2 – Exercício de força X Câncer

Como já foi comentado, a maioria dos trabalhos científicos, envolvendo atividade física e câncer foram realizados utilizando-se exercício aeróbios, o que configura falta de informações a respeito do efeito de outros tipos de atividade física sobre indivíduos com câncer.

A perturbação fisiológica desencadeada por uma sessão de treinamento de força, eleva as taxas de síntese protéica no tecido muscular esquelético (FARRELL et al., 1999) e pode induzir a ganhos significativos de força e massa magra nos indivíduos que o praticam (KADI, 2000; BARACOS, 2001). Esta observação levou alguns pesquisadores a utilizar protocolos envolvendo esse tipo de atividade em indivíduos apresentando alto índice de perda de tecido muscular. FERRANDO et al. (1997) utilizaram em seu estudo, protocolo de treinamento de força, por período de duas semanas, em indivíduos jovens, saudáveis, que deveriam ficar acamados durante o tempo de realização do experimento. Após as duas semanas, foi mensurada a síntese protéica no músculo vasto lateral da coxa nos grupos treinados e controle, não treinado. O grupo que praticou o exercício de força, enquanto estava acamado, apresentou síntese protéica 42% maior que o grupo não treinado. Em indivíduos portadores de HIV, oito semanas de treinamento de força promoveram ganhos de massa muscular, sendo os indivíduos com o mais alto grau de perda de massa magra os maiores beneficiados, atingindo ganho de 4 kg ao final das oito semanas (ROUBENOFF et al., 1999). Em outro trabalho a respeito desse mesmo estudo, foi evidenciado o aumento de força e funcionalidade muscular nos indivíduos, o que acarretou em melhoria da qualidade de vida dos pacientes (ROUBENOFF; WILSON, 2001). Mesmo que os resultados sejam animadores, certa cautela deve ser tomada, pois alguns pacientes estavam ingerindo drogas antiproteolíticas durante o período do experimento como parte do conjunto de drogas para combater a proliferação do vírus.

NIEMAN et al. (1995) observaram ganho de força em mulheres com câncer de mama, que realizaram programa de exercícios por oito semanas. O programa consistiu de exercícios de resistência e força. As pacientes faziam caminhadas de 30

minutos a 75% da frequência cardíaca máxima e, após a caminhada, sessão de 30 minutos de treinamento de força. Devido à característica mista do protocolo empregado, é difícil relacionar o resultado positivo somente ao treinamento de força, pois trabalhos que utilizaram protocolos de resistência em pacientes com câncer, também obtiveram resultados positivos (AL-MAJID; McCARTHY, 2001a).

AL-MAJID; McCARTHY (2001b), em estudo realizado com camundongos portadores do Adenocarcinoma de Colon-26, observaram a repercussão de oito sessões de treinamento de força, sobre o peso e a quantidade de proteína no músculo EDL. As sessões eram feitas em dias alternados e compostas de dez séries de seis repetições cada. No grupo portador de tumor treinado, o músculo EDL apresentou aumento de 62% no peso e de 25% no conteúdo de proteína, quando comparado ao grupo portador de tumor não treinado. Observação interessante dos autores foi que a intensidade de treinamento utilizada no experimento não causou hipertrofia no músculo EDL do grupo treinado sem tumor, o que pode significar que a musculatura debilitada e desgastada pode responder de maneira diferenciada a estímulos que, quando aplicados a indivíduos saudáveis, não produzem efeito. A literatura científica relacionada à utilização do treinamento de força para prevenir a perda de massa muscular em indivíduos com câncer é bastante pobre. Com base nesta literatura ainda não é possível assumir que o treinamento de força reduz a percepção de fadiga ou possui efeitos anabólicos significativos em músculos de indivíduos com câncer (AL-MAJID; McCARTHY, 2001a).

1.8 – Treinamento de força e aumento da síntese protéica muscular

Os passos iniciais da tradução do mRNA são regulados por proteínas citosólicas conhecidas como fatores eucarióticos de iniciação (eIFs). Estes fatores facilitam a formação do complexo de tradução por uma série de reações coletivamente denominadas de “cadeia de iniciação peptídica”. O alongamento e o término da cadeia peptídica também são importantes no controle da síntese protéica, no entanto, em muitas condições, incluindo diabetes (KIMBALL; VARY; JEFFERSON, 1994) e exercício (BAAR; ESSER, 1999), o controle da cadeia de iniciação peptídica pode ser passo limitante para o início da síntese protéica (FARRELL et. al., 2000). Segundo FARRELL et al. (1999), a estimulação da síntese protéica, após sessão de treinamento de força, está associada com o aumento da

atividade do eIF2B. KIMBALL; FARREL; JEFFERSON (2002) relataram que os mecanismos pelos quais o treinamento de força aumenta a atividade do eIF2B ainda não são conhecidos, mas tem sido demonstrado que não existe relação com as mudanças na concentração plasmática de hormônios como insulina e corticosterona, ou com a quantidade de RNA muscular, induzidas pelo exercício em ratos.

Como já comentado, o TNF- α pode estar envolvido no aumento da proteólise muscular. Em trabalho com indivíduos idosos CREIWE et. al. (2001), constataram que o exercício de força diminui a quantidade de TNF- α produzido pelo músculo e aumentou a taxa de síntese protéica. Outra observação sobre o TNF- α , é que este está inversamente relacionado com a expressão da enzima lipase-lipoprotéica (LPL) (KERN et al., 1995). A LPL é abundantemente expressa na musculatura esquelética sadia e esta expressão é bastante regulada pelo exercício (SEIP; ANGELOPOULOS; SEMENKOVICH, 1995; SEIP et. al., 1997). O exercício de força, por aliviar o efeito inibitório do TNF- α sobre a expressão de LPL e sobre a síntese protéica, pode permitir a síntese de novas proteínas e provir o músculo com importante recurso energético, os ácidos graxos (CREIWE et. al., 2001).

Outro fator que pode influenciar o *turnover* protéico muscular é a ação das prostaglandinas. Estas são sintetizadas por vários tipos celulares, entre estes a célula muscular (PALMER, 1990; VANDERBURGH, 1995). Especificamente, a PGF $_{2\alpha}$ estimula, enquanto a PGE $_2$ tem efeito inibitório sobre síntese protéica muscular (VANDERBURGH, 1995). A produção de prostaglandinas é regulada em dois níveis: 1) pelo controle da atividade de várias lipases como as: A2, C e D (VANDERBURGH, 1993), que liberam o ácido araquidônico, precursor de prostaglandinas, dos fosfolípidos de membrana e 2) pelo controle da atividade das enzimas que convertem o ácido araquidônico em prostaglandinas, as ciclooxigenases (HERSH et al., 2000). TRAPPE et al. (2001) demonstraram que o treinamento de força excêntrico, provoca aumento na produção de PGF $_{2\alpha}$ e também da síntese protéica em tecido muscular esquelético humano. Estes efeitos foram atenuados quando inibidores de ciclooxigenase foram administrados. Em adição, foi demonstrado que o exercício e a sobrecarga ativam cascata de sinalizações na musculatura esquelética (ARONSON et al. 1998; FLUCK et al. 1999). CARSON; WEI (2000), em uma revisão, focaram a participação da sinalização desenvolvida pelas integrinas mediando à expressão gênica no processo de hipertrofia muscular estimulada pela sobrecarga e estiramento. As integrinas são conhecidas por

trabalharem como sensores primários para a retransmissão de sinais físicos e mecânicos do ambiente circundante para o interior da célula, o que permite então resposta celular apropriada. A função sensitiva da família das integrinas pode ser cumprida, porque estas são proteínas associadas à membrana, envolvidas na manutenção das interações célula-célula e célula-matiz extracelular (INGBER, 1997). As integrinas são uma família de glicoproteínas heterodiméricas constituídas de subunidades α e β . Múltiplas isoformas das subunidades e a ocorrência de *splicing* alternativos do mRNA, dão grande diversidade a esta família (CLARK; BRUGGE, 1995). O estiramento e a sobrecarga imposta às células musculares esqueléticas gera uma cascata de sinalizações envolvendo integrinas, outras proteínas e fatores que como resultado final estimulam a síntese protéica (CARSON; WEI, 2000). Na FIGURA 4 estão representados alguns dos mecanismos citados.

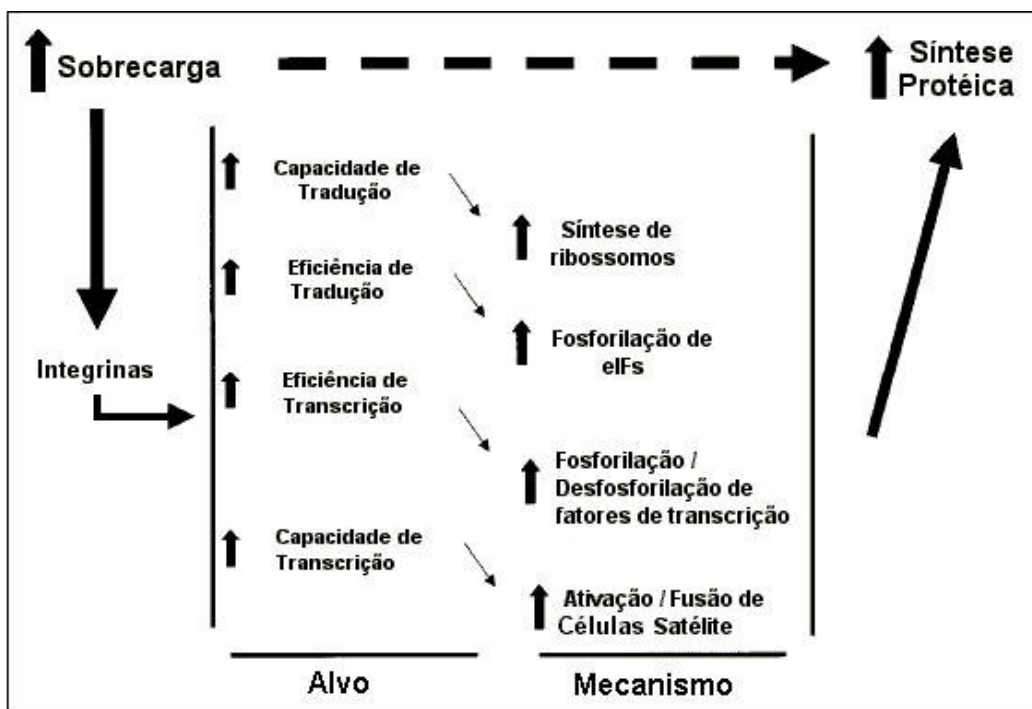


FIGURA 4 – Integrinas e outras proteínas nas cascatas de sinalizações desencadeadas pela aplicação de sobrecarga à célula muscular (CARSON; WEI, 2000).

Uma sessão de treinamento de força pode aumentar significativamente a secreção de testosterona e hormônio do crescimento (GH) em indivíduos do sexo masculino e apenas a secreção de GH nos do sexo feminino (KRAEMER et. al.,

1991). Estes são fatores que podem favorecer muito o anabolismo protéico muscular (BARACOS, 2001).

O aumento da sensibilidade à insulina é observado na musculatura exercitada, o que não acontece no músculo inativo (WOJTASZEWSKI et al., 2002). FLUCKEY; ENEVOLDEN; GALBO (2001) demonstraram que a taxa de síntese protéica estava aumentada na musculatura submetida ao exercício de força excêntrico, fato este relacionado ao aumento da sensibilidade a insulina segundo os autores.

1.9- β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) X proteólise muscular

Estudos têm demonstrado que a ingestão de refeições contendo proteínas pode promover aumento na taxa de síntese protéica corpórea total bem como a supressão da degradação protéica (BIOLO et al., 1992; De FEO et al., 1992; GAUTSCH et al., 1998). Este efeito anabólico pode ser atribuído em parte ao aumento do aporte de aminoácidos para a musculatura esquelética. Adicionalmente, aminoácidos específicos podem funcionar como moléculas sinalizadoras interferindo no *turnover* protéico. Em particular, o aminoácido de cadeia ramificada, leucina, possui a habilidade de estimular, independentemente, a síntese protéica *in vitro* (ANTHONY et al., 2001).

O efeito regulatório da leucina em estimular a síntese e/ou inibir a degradação protéica, em tecidos isolados, tem sido confirmado em vários estudos (ANTHONY et al., 2002). No entanto, o mecanismo pelo qual a leucina altera o *turnover* protéico ainda não está bem descrito. Inibidores da transaminação da leucina (o que não afeta o efeito estimulatório da leucina sobre a síntese protéica) inibem o efeito da leucina sobre o catabolismo protéico. Isto sugere, fortemente, que o efeito sobre a degradação protéica é mediado por algum metabólito da leucina (OSTASZEWSKI et al., 2000).

Um metabólito da leucina candidato a promotor do efeito inibitório sobre o catabolismo protéico é o β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB). O HMB é produto do metabolismo do aminoácido leucina. A partir da transaminação deste aminoácido é formado α -cetoisocaproato, o qual é parcialmente oxidado a β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) (NISSEN; ABUMRAD, 1997) (FIGURA 5). Estudos indicam que, em humanos, o HMB diminui, significativamente, o aumento da proteólise induzida pelo exercício,

mensurada pela concentração de 3-metilhistidina na urina (NISSEN et. al. 1996). Em adição, a suplementação com HMB tem demonstrado aumentar a massa magra, tanto em humanos quanto em animais (VUKOVICH et al., 2001; JOWKO et. al., 2001).

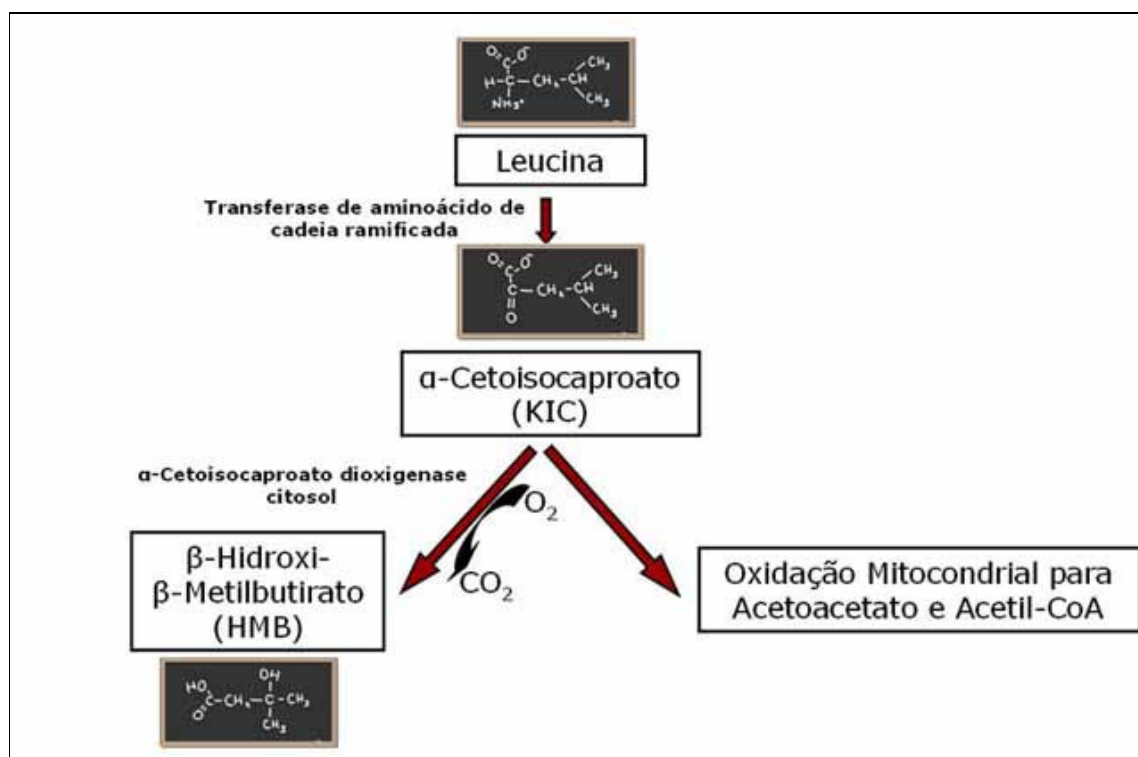


FIGURA 5 – Estrutura do β-hidroxi-β-metilbutirato (HMB), Leucina, e α-cetoisocaproato (KIC) em mamíferos. A Leucina é transaminada a KIC o qual pode ser convertido a HMB ou outros produtos.

A leucina é encontrada em muitas fontes protéicas da dieta e é considerada essencial para a construção de proteínas em todos os tecidos. Alguns autores propõem que sobre situações de estresse tanto animais quanto humanos não podem ingerir ou sintetizar as quantidades de HMB necessárias para suprir a demanda dos tecidos. A hipótese de que o HMB possa ser suplemento efetivo em maximizar o crescimento e prevenir a perda muscular durante situações de alto estresse vem sendo testada (NISSEN; ABUMRAD, 1997). SMITH et al. (2004) demonstraram, em experimentos *in vitro*, que o HMB tem a capacidade de diminuir a expressão de genes do sistema proteossoma ubiquitina-ATP dependente induzida pelo PIF em miotubulos de roedores, o que diminuiria a proteólise muscular.

Contudo, o mecanismo correto pelo qual o HMB poderia interferir no metabolismo protéico ainda é desconhecido.

MAY et al. (2002) e CLARK et al. (2000) utilizaram HMB em conjunto com arginina e glutamina, na tentativa de reverter o quadro de perda muscular esquelética observada em pacientes com câncer e síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), respectivamente. Nos dois casos, o grupo suplementado apresentou ganho de massa muscular esquelética quando comparado ao placebo. Nestes trabalhos os autores atribuíram o aumento da massa muscular ao efeito anticatabólico do HMB associado ao aumento da síntese protéica causado pelos aminoácidos glutamina e arginina. No entanto, houve dificuldade por parte dos autores em caracterizar qual dos compostos administrados teve maior participação no resultado obtido.

1.10- β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) x sistema imunitário

Células do sistema imunitário, como macrófagos e neutrófilos, desempenham papel fundamental nos processos inflamatórios, no reconhecimento e lise de células tumorais (KLIMP et al., 2002). Neste sentido, a melhora na função imunitária pode trazer benefícios a indivíduos portadores de tumor.

Trabalhos com suplementação de HMB tem demonstrado diminuição na mortalidade em frangos e bezerros (VAN KOEVERING et al. 1994, PETERSON et al., 1999). Segundo PETERSON et al. (1999) esta diminuição na mortalidade pode estar relacionada à melhora da função imunitária nos indivíduos suplementados com HMB. SIWICKI et al. (2000) demonstraram *in vitro*, que a adição de HMB ao meio de cultivo aumentou a capacidade proliferativa e citotóxica dos linfócitos de trutas e carpas. Em adição, PETERSON et al. (1999) demonstraram que o cultivo de macrófagos de frango, em presença de HMB, provocou um aumento da capacidade fagocítica e da produção de óxido nítrico (NO). No entanto, o mecanismo pelo qual essas funções foram melhoradas ainda não foram elucidados.

SIWICKI et al., (2004) demonstraram que o HMB estimulou a proliferação de linfócitos de peixe *in vitro*, sugerindo aplicação dessa substância para a modulação da imunidade mediada por células. Em adição, a suplementação com 3g de HMB por 6 semanas demonstrou aumentar a contagem de monócitos em atletas saudáveis altamente treinados (CROWE et al., 2003).

NISSEN; ABUMRAD (1997) propuseram que o HMB pode estar atuando como recurso energético ou como modulador do metabolismo energético nestas células. Outra hipótese levantada pelos mesmos autores é a utilização do HMB para produção e manutenção das membranas dessas células, pois foi demonstrado que o HMB é uma das fontes de carbono para síntese de colesterol.

2 – JUSTIFICATIVA

Aproximadamente metade dos pacientes com câncer apresenta a síndrome da caquexia (BRUERA, 1997). Estes experimentam fadiga e fraqueza freqüentemente, em aproximadamente 70% dos casos (DIMEO; RUMBERGER; KEUL, 1998), que vem acompanhada da perda de tecido muscular, sendo este um fator contribuinte para a morbidade e mortalidade no câncer (AL-MAJID; McCARTHY, 2001a). Desta forma, intervenções que venham a atenuar a perda muscular, tem importância clínica significativa (AL-MAJID; McCARTHY, 2001a). Durante o tratamento, pacientes com câncer apresentam, freqüentemente, prolongada inatividade física devido aos efeitos colaterais das terapias utilizadas (MacVICAR; WINNINGHAM, 1986).

Tendo em vista que a etiologia da caquexia seja pouco conhecida, várias hipóteses vem sendo exploradas incluindo citocinas, hormônios circulantes, neuropeptídeos, neurotransmissores e fatores produzidos pelos tumores (PLATA-SALAMAN, 1996). Uma visão emergente acredita que a caquexia é causada predominantemente por citocinas produzidas tanto pelo sistema imunitário do hospedeiro, quanto pelo próprio tumor (PLATA-SALAMAN, 1996; TISDALE, 1997; BRUERA, 1997; HIRAI et al., 1998). O exercício é capaz de alterar a funcionalidade imunitária de indivíduos saudáveis, resposta esta que pode estar ligada a alterações nas concentrações de algumas citocinas. Desta forma, a atividade física pode ser um tipo de intervenção utilizada como coadjuvante no tratamento de algumas enfermidades, como o câncer (PEDERSEN et al., 2000; COLBERT et al. 2001; SUGIURA et al. 2002).

Resultados de alguns trabalhos demonstraram que o exercício pode reduzir a sensação de fadiga e a ansiedade, e aumentar a disposição, contrapondo-se a algumas conseqüências negativas da recuperação e tratamento contra o câncer, aumentando a qualidade de vida (FRIEDENREICH; COURNEYA, 1996; DIMEO et al., 1997; DURAK; LILLY, 1998; BURNHAM; WILCOX, 2002). A atividade física pode induzir mudanças tanto na via de síntese, quanto na de degradação protéica, sendo que anormalidades em ambas as vias têm sido relacionadas à perda de tecido muscular em indivíduos com câncer (AL-MAJID; McCARTHY, 2001a). Trabalhos em animais demonstraram que o exercício pode prolongar a vida dos indivíduos treinados e diminuir o crescimento tumoral (BACURAU et al., 2000).

O exercício de força aumenta a massa muscular de indivíduos saudáveis e atenua a perda muscular associada a uma variedade de condições hipercatabólicas. Levando em consideração estes efeitos anabólicos em indivíduos saudáveis e doentes, este tipo de exercício pode ser examinado como uma intervenção com grande potencial para retardar a perda de tecido muscular causada pelo câncer, o que poderia aumentar, em muito, a qualidade de vida do indivíduo. Aliado ao exercício, a suplementação com HMB pode acarretar em melhoras no metabolismo protéico muscular dos indivíduos com câncer. Contudo, a literatura atual levantada é bastante deficiente em relação aos efeitos do treinamento de força e da suplementação de HMB nestes indivíduos.

3 – OBJETIVOS

Pouco se sabe sobre o efeito do treinamento de força em indivíduos com câncer. Somado a isto, a real funcionalidade do HMB em modular o catabolismo protéico muscular e a função das células do sistema imunitário ainda é muito discutida, com seus mecanismos de ação não conhecidos. Este trabalho visa observar os benefícios que o treinamento de força e a suplementação com HMB podem trazer ao indivíduo com câncer. Para isto foram analisados.

1. A taxa de ganho de peso dos indivíduos
2. O peso tumoral e da carcaça.
3. O efeito do treinamento e da suplementação com HMB o sobre a capacidade proliferativa das células do tumor de Walker 256
4. A glicemia, lactacidemia e concentrações plasmáticas de triacilgliceróis, colesterol Total, HDL, VLDL e LDL.
5. O conteúdo de glicogênio hepático e muscular.
6. A atividade citotóxica de macrófagos e células polimorfonucleares sanguíneas retratada pela produção de peróxido de hidrogênio, ânion superóxido.
7. O volume lisossomal dos macrófagos e células polimorfonucleares sanguíneas
8. A atividade fagocitária dos macrófagos e células polimorfonucleares sanguíneas.

4 – MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 – MODELO EXPERIMENTAL, PROCEDIMENTOS E REAGENTES

4.1.1 - Animais

Todos os procedimentos utilizando animais foram aprovados pela comissão de ética em experimentação animal (CEEAA) do Setor de Ciências Biológicas (SCB) - Universidade Federal do Paraná (UFPR). Foram utilizados ratos machos albinos adultos (70 dias) da linhagem Wistar. Os animais foram obtidos no Biotério Do SCB da UFPR – Campus do Centro Politécnico, Curitiba, PR.

4.1.2 - Enzimas, Reagentes e HMB

Enzimas e reagentes utilizados foram obtidos da Sigma Chemical Co., St. Louis, USA. O HMB (em forma de sal de cálcio) foi doado pela Metabolic Technologies Inc. (Ames, IA, USA).

4.1.3 - Modelo experimental

Ratos Wistar machos (70 dias) foram mantidos em ciclo claro/escuro (12/12h) e temperatura ($23^{\circ}\text{C} \pm 1$) com livre acesso a comida e água. Os ratos foram aleatoriamente divididos em oito grupos: Sedentário sem suplementação (S), Sedentário com suplementação de HMB (SH), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário portador de tumor suplementado com HMB (SWH), Exercitado sem suplementação (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado com suplementação (EXH) e Exercitado portador de tumor suplementado com HMB (EXWH). Por volta sexta semana de treinamento 1 mL de solução contendo 3×10^7 células do Tumor de Walker 256 foi inoculada subcutaneamente no flanco direito dos indivíduos. Após 15 dias com o tumor, coincidindo com a oitava semana de treinamento, os animais foram ortotansados para coleta e análise dos tecidos. Foram utilizados, aproximadamente, 150 ratos para a realização de todos os experimentos.

4.1.4 - Pesagem dos Indivíduos e dos tumores

Durante o experimento, os animais foram pesados a cada três dias no período da manhã, sempre antes do treinamento, utilizando-se a balança Urano. Após a

ortotanasia, o tumor foi retirado e também pesado em balança Denver Instrument XL-410.

4.1.5 - Protocolo de treinamento

Após período de adaptação ao meio líquido (1 hora de natação por dia durante 2 dias sem utilização de carga), os animais dos grupos exercício realizaram programa de atividade física constituído de saltos em tanque com água, com sobrecarga equivalente a 50% do peso corporal de cada indivíduo acoplado ao tórax. Foi utilizado protocolo de aumento progressivo da carga até que todos os indivíduos estivessem aptos a realizar a sessão com a carga de 50%. A sessão de treinamento resumiu-se na realização de 10 séries de saltos, onde cada série teve duração de 30 segundos, com 1 minuto de intervalo entre as séries (os indivíduos efetuavam aproximadamente 10 saltos por série). Foram feitas 4 sessões semanais de treinamento, com descanso na quarta-feira e fins de semana, durante 8 semanas.

A temperatura da água foi mantida a $32\pm 2^{\circ}\text{C}$. Os saltos foram realizados em piscinas de tubo PVC com 250 mm de diâmetro, visando limitar a alternativa do animal em seguir para outra direção, favorecendo dessa forma o salto. A profundidade da água foi correspondente a 150% do comprimento corporal do rato (ROGATTO; LUCIANO, 2001, adaptado).

4.1.6 – Suplementação com HMB

Coincidindo com o início do período de treinamento iniciou-se a administração de HMB para os grupos suplementados. A cada semana foram preparadas soluções estoque, contendo HMB e sacarose (10%), pois, após duas semanas existe degradação progressiva do HMB em solução (NISSEN et al. 1996), e dessas foram retiradas alíquotas diárias para administração, por gavagem, aos animais. A dose utilizada foi de 76 mg de HMB/kg/dia. A sacarose estava presente nas soluções com o intuito de lentificar o processo de esvaziamento gástrico, o que evita o aumento brusco na concentração de HMB plasmático e conseqüentemente sua excreção renal (VUKOVICH et al 2001).

4.1.7 - Ortotanásia dos indivíduos

Após 8 semanas de treinamento coincidindo com o 15º após a implantação do tumor, foi realizada a ortotanásia dos indivíduos com o auxílio de guilhotina. Este

método foi utilizado para facilitar a retirada de grande volume sangue, necessário às análises séricas e isolamento de células polimorfonucleares.

4.1.8 - Contagem das células tumorais, macrófagos e polimorfonucleares

A contagem total (número de células por mL) foi feita em câmara de Neubauer utilizando-se 100 μ L de suspensão de células em 100 μ L de Azul de Tripán. As células que se coraram em azul foram consideradas inviáveis, enquanto que as brilhantes e refringentes a luz viáveis.

4.2 - METODOLOGIAS PARA ENSAIOS ENVOLVENDO CÉLULAS DO TUMOR DE WALKER 256

4.2.1 - Implantação do Tumor

O tumor de Walker 256 foi identificado por George Walker em 1928, no John's Hopkins University School of Medicine, em glândulas mamárias de uma rata grávida. Em 1953 e 1954 esse tumor foi transplantado em ratos por inoculação subcutânea. O tumor de Walker 256 apresenta 2 subtipos: tipo A metastisante que leva a caquexia terminal dos ratos portadores em aproximadamente 27 dias; e o tipo B que não forma metástases e induz a caquexia precoce do portador, levando a morte em 15 dias (FERNANDES, 1995). Nos experimentos foram utilizados matrizes com o tumor de Walker 256, tipo B, cedido gentilmente pelo Professor Dr. Rui Curi, ICB – USP, mantido pelo Laboratório de Metabolismo Celular.

Foi injetado intraperitonealmente em um rato macho adulto uma suspensão de 2×10^7 células/mL do tumor de Walker 256. Após um período de cinco dias, quando constatado a ascite, o animal foi ortotanasiado e injetado 10 mL de solução salina 0,9% em sua cavidade abdominal. Em seguida, foi massageado seu abdome, e através de laparotomia mediana, foi coletado da cavidade abdominal, com pipeta Pasteur de plástico, o fluido contendo as células tumorais. Foi feita a contagem do número de células tumorais utilizando-se câmara de Neubauer. Após a contagem, 3×10^7 células (em 1 mL de solução) foram inoculadas subcutaneamente no flanco direito nos animais em experimentação por volta da sexta semana de treinamento.

4.2.2 - Cultivo das células tumorais

Após realizar todo o procedimento para isolamento das células tumorais, como descrito previamente, estas foram lavadas 3 vezes em tampão fosfato (PBS) contendo antibiótico (2,5 U/mL de penicilina e 2,5 µg/mL estreptomicina, concentração final) e transferidas para tubos estéreis (50 mL). Após a quarta lavagem, as células estavam em condições estéreis e foram ressuspensas em meio RPMI -1640 contendo 10% de soro fetal bovino, antibiótico e 20 µl de uma solução contendo (2-¹⁴C)-Timidina (0,02 µCi/poço) para incorporação no DNA. Essas (1 x 10⁵ células/mL) foram então cultivadas por 24h a 37^o C em atmosfera de 95% ar / 05% CO₂.

Após este período, foram coletadas automaticamente em coletor múltiplo (Skatron Combi Multiple Cell Harvester, UK) em papéis filtro nº 11731 (Skatron Combi - UK). Neste processo não há necessidade de processos extrativos preparatórios para obtenção de DNA celular. Os discos de papéis contendo a radioatividade incorporada no DNA foram transferidos para frascos contendo 1 mL de líquido de cintilação e foram levados para mensuração em contador Beckman LS 6500. Os resultados foram expressos em contagens por minuto (cpm).

4.3 - METODOLOGIAS PARA ENSAIOS UTILIZANDO MACRÓFAGOS

4.3.1 - Obtenção de macrófagos

Para obtenção de macrófagos peritoneais foi removida a pele da região abdominal e então 20mL de tampão fosfato-salina (PBS), pH 7,4, foram injetados na cavidade peritoneal dos animais. Trinta segundos após a administração, a cavidade foi aberta e o fluido, contendo as células, aspirado com a utilização de pipeta tipo Pasteur de plástico. Em seguida, estas células foram centrifugadas, duas vezes, a 1500 rpm, 4 °C, durante 10 minutos em centrífuga Eppendorf modelo 5810R.

4.3.2 - Soluções

Solução de tampão fosfato salina pH 7,4, 10 mM (PBS) foi utilizada como meio de diluição para os corantes. O fixador utilizado foi o Baker formol-cálcio (formaldeído 4%, cloreto de sódio 2% e acetato de cálcio 1%). A solução de extração consistiu de ácido acético glacial 1% e etanol 50% em água destilada. A solução estoque do corante vermelho neutro foi preparada pela dissolução de 20 mg de

corante em 1 mL de DMSO (dimetil sulfóxido) e a solução para uso de rotina é preparada pela diluição de 20 mL da solução estoque em 5 ml de PBS. A solução de vermelho fenol para os ensaios de produção de H_2O_2 consiste de 5,5 mM de dextrose, 0,56 mM de vermelho fenol e 8,5 U/ml peroxidase “horseradish” (Sigma) em PBS pH 7,4 a 340 mOsm, e previamente adiciona-se 0,05% de zymosan ($2,3 \times 10^8$ partículas/mL), para os ensaios de fagocitose. Obtém-se a solução diluindo-se 40 mg de zymosan em 6 mL de PBS e adiciona-se 600 mL de vermelho neutro.

4.3.3 - Atividade fagocítica dos macrófagos

Utilizou-se o método descrito por Bonatto et al. (2004). Da solução peritoneal foram depositados 100 μ L contendo 10^5 células em placa de 96 perfurações e adicionou-se 10 μ L de zymosan corado com vermelho neutro e incubou-se por 30 minutos. Após, foram adicionados 100 μ L de fixador. Após 30 minutos, a placa foi lavada com PBS e centrifugada por 5 minutos a 1.500 rpm. O vermelho neutro que está dentro dos fagossomos foi então solubilizado utilizando-se 100 μ L de solução de extração e após 30 minutos procedeu-se a leitura em leitor de microplacas (Bench Mark –Biorad). Os dados foram expressos em absorbância/ 10^5 células.

4.3.4 - Produção de ânion superóxido

Foi medida pela redução de nitroblue tetrazolium (NBT), um composto amarelo lipossolúvel que se torna insolúvel e de cor azul no seu estado reduzido (MADHAVI et al., 1994). Alíquotas de 100 μ L de solução do peritônio foram colocadas em poços, como descrito anteriormente, e seguida de NBT 0,1% e 10 μ L de PMA (80 μ M), onde ficaram incubando por 30 minutos a 37°C. A placa foi centrifugada 5 minutos a 1500 rpm, lavada com PBS e as células fixadas com metanol 50%. Após uma incubação de 10 minutos, a placa foi centrifugada novamente e o sobrenadante descartado. O NBT reduzido, presente no sedimento, foi solubilizado em 120 μ L de KOH e 140 μ L dimetilsulfóxido (DMSO). A absorbância do sobrenadante foi determinada a 550nm em leitor de microplacas (Bench Mark – Biorad). Os dados foram expressos em absorbância/ 10^5 células.

4.3.5 - Produção de peróxido de hidrogênio

A produção de peróxido de hidrogênio foi mensurada utilizando-se o método descrito por Bonatto et al. (2004). Através da oxidação de vermelho fenol é possível detectar a produção de H₂O₂. Alíquotas de 100 µL de solução do peritônio contendo 10⁵ células e 10 µL de éster de forbol miristato acetato (PMA – 20 µM) foram colocadas nas placas de 96 perfurações. Após 1 hora de incubação no escuro, as placas foram escorridas e os poços receberam 100 µL da solução de vermelho fenol. Incubando-se durante 30 minutos e a leitura realizada a 620 nm em leitor de microplacas (Bench Mark –Biorad). Os dados foram expressos em µmol/ 10⁵ células.

4.3.6 – Volume Lisossomal

Para esta análise utilizou-se o método descrito por PIPE *et al.* (1995), onde em placas de 96 perfurações depositou-se 100 µL da solução, contendo 10⁵ células e 20 µL de solução estoque de vermelho neutro (20 mg de vermelho neutro em 1 mL de DMSO) a 2%. Após 30 minutos, a placa foi centrifugada por 5 minutos a 1.500 rpm. O sobrenadante foi descartado e os orifícios lavados com PBS, para eliminar o vermelho neutro que não foi internalizado pelas células. Foram 100 µl de solução de extração para solubilizar o vermelho neutro que estava dentro dos lisossomos. Após 30 minutos, a placa foi lida a 550 nm utilizando leitor de placas (Microplate reader Bio-rad - Benchmark). Os dados foram expressos em absorbância/ 10⁵ células.

4.4 - METODOLOGIAS PARA ENSAIOS UTILIZANDO CÉLULAS POLIMORFONUCLEARES SANGUÍNEAS

4.4.1 - Coleta e separação de células sanguíneas

O sangue dos indivíduos foi coletado em tubos de ensaio previamente heparinizados e, mantidas sob refrigeração. Após a coleta, o sangue foi submetido ao seguinte protocolo:

1. Centrifugar o sangue no próprio tubo de coleta a 1200 rpm por 10 minutos a 4°C;
2. Aliquotar o plasma;

3. Transferir o restante para um tubo falcon de 50 mL;
4. Colocar o mesmo volume de PBS;
5. Preparar os tubos de vidro (15 mL) com 3 mL de HISTOPAQUE[®]-1077;
6. Acrescentar 8 mL de sangue diluído com PBS em cima do HISTOPAQUE[®]-1077;
7. Tampar com parafilm;
8. Centrifugar a 1200 rpm durante 30 minutos a 12°C;
9. Desprezar a fase superior e transferir a camada intermediária para outro tubo – juntar duas camadas intermediárias em cada tubo (volume 2 mL) – **Linfócitos e Monócitos**; A camada constituída de hemácias e células polimorfonucleares é transferida para um falcon de 50 mL.

Polimorfonucleares

1. Transferir o sedimento de células para 2 tubos Falcon de 50 mL;
2. Completar o volume de 50 mL com Solução hemolítica;
3. Deixar em banho-maria a 37°C por 15 minutos;
4. Centrifugar a 1200 rpm por 10 minutos a 4°C;
5. Desprezar o sobrenadante, se necessário fazer nova lise de hemácias;
6. Ressuspender as células em PBS;
7. Contar em Câmara de Neubauer;
8. Submeter os polimorfonucleares aos experimentos.

Depois de isoladas as células polimorfonucleares, representada em sua maioria pelos neutrófilos que constituem 60% dos leucócitos circulantes (CURI et al., 1998), foram submetidas aos mesmos protocolos dos macrófagos.

4.5 - ANÁLISES PLASMÁTICAS

4.5.1 - Mensuração da Glicemia

A glicose foi quantificada por método colorimétrico, utilizando-se sistema comercial Glicose E enzimática da labtest. Os ensaios foram realizados segundo as

instruções do fabricante. A leitura foi feita em espectrofotômetro ULTROSPEC 2000 (Pharmacia Biotech) a 505 nm.

4.5.2 - Mensuração do Lactato

Foi determinado pelo método enzimático, segundo ENGLE & JONES (1978). Inicialmente fez-se a desproteinização do soro, pela adição de 50 µL de ácido tricloroacético (TCA a 25%) a 0,5 mL da amostra e a mistura agitada em vórtex, centrifugada por 1 minuto a 13.000 rpm em centrífuga Eppendorf modelo 5810R. Em seguida, foi coletado 200 µL do sobrenadante e adicionado 2 µL de indicador universal para permitir a visualização da neutralização do soro, pela adição de KOH / TRIS (0,5 M / 2 M), sinalizada pela coloração verde, indicando pH 7,0. Em seguida, foi pipetado 100 µL do soro neutralizado em tubos de ensaio contendo 1 mL do tampão do ensaio (descrito abaixo) e, após 45 minutos, fez-se leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda 340 nm. O princípio dessa mensuração consiste na conversão do lactato a piruvato pela ação da lactato desidrogenase (LDh), ocorrendo consumo de NAD⁺ com formação estequiométrica de NADH, o qual pode ser monitorado espectrofotometricamente, fornecendo as concentrações de lactato existente na amostra. Segundo a reação:



A partir da medida da absorbância, foi calculada a concentração do lactato sérico em µmol/mL, pela fórmula:

$$[\text{Lactato}] = \frac{\text{D. O.}}{6,22} \times \frac{\text{V1}}{\text{V}} \times \frac{\text{V2}}{\text{V3}} \times \frac{\text{V4}}{\text{V5}}$$

[Lactato] = concentração de lactato produzida

D. O. = densidade ótica

6,22 = constante

V = volume da amostra

V1 = volume da amostra + tampão de ensaio

V2 = volume do soro com proteínas + TCA

V3 = volume do soro com proteínas

V4 = volume do soro desproteínizado + volume de neutralização

V5 = volume do soro desproteínizado

Tampão de Ensaio (para 100 mL de H₂O destilada)	
EDTA	0,28 g
Glicina	2,8 g
Hidrato de Hidrazina	1,5 mL
LDh	0,4 mL
NAD ⁺	60 mg
pH	8,85

4.5.3 - Determinação do Colesterol Total

Foi determinado por método enzimático, conforme sistema comercial Colesterol COD-ANA da Labtest. As amostras foram preparadas segundo as instruções do fabricante com posterior leitura em absorvância de 500 nm, foi calculada a concentração de colesterol em mg/dL.

4.5.4 - Determinação do Colesterol HDL

Foi utilizado o sistema para precipitação das lipoproteínas de baixa e de alta densidade (LDL e VLDL) e determinação do colesterol HDL no sobrenadante após centrifugação utilizando-se o sistema comercial enzimático Colesterol HDL – precipitante em associação com o sistema comercial Colesterol COD-ANA da Labtest, com leitura de absorvância a 500nm. Após a medida da absorvância em 500nm, foi calculada a concentração de colesterol HDL em mg/dL.

4.5.5 - Determinação dos Triacilgliceróis (TAGs)

Foi determinado pelo método enzimático colorimétrico que utiliza quatro enzimas, conforme o sistema comercial TRIGLICÉRIDES GPO-ANA da Labtest. As amostras foram preparadas seguindo-se as instruções do fabricante, e após a leitura da absorvância em 540nm, a concentração de triacilgliceróis foi expressa em mg/dL.

4.5.6 - Determinação de Colesterol LDL e VLDL

Os valores das concentrações do colesterol LDL foram obtidos pela subtração dos valores de colesterol HDL do colesterol total e os valores do colesterol VLDL pela divisão dos valores das concentrações de triacilgliceróis por 5.

4.6 - DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE GLICOGÊNIO HEPÁTICO E MUSCULAR

O conteúdo de glicogênio foi determinado segundo LEIGHTON *et al.* (1989) adaptado. O fígado ou os músculos (gastrocnêmio e sóleo), aproximadamente 90 mg, foram retirados e colocados em tubos de ensaio contendo 500 μ L de KOH 1M e deixados em banho a 60 °C por 30 minutos, para a digestão do tecido. Após o banho, as amostras foram homogeneizadas em vórtex e pipetados 100 μ L em tubos para microcentrífuga contendo 17,5 μ L de ácido acético glacial e 500 μ L de tampão acetato contendo amiloglucosidase 0,1%, e submetidas ao banho-maria (37 °C) por 3 horas. Ao final deste período centrifugou-se as amostras por 5 minutos a 15000 g, e 100 μ L de cada amostra foi colocada em novos tubos de ensaio contendo 1 mL do tampão Trietanolamina (TEA). Após 40 minutos as amostras foram lidas no espectrofotômetro em um comprimento de onda de 340 nm.

4.7 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM), representativos de pelo menos três experimentos diferentes. A análise estatística foi ANOVA com o pós-teste de Tukey, com nível de significância para $p < 0,05$.

5 – RESULTADOS

5.1 – Variação do peso corporal

No transcorrer do período de experimentação todos os grupos apresentaram crescimento contínuo e ganho de peso progressivo, não havendo diferença estatística entre qualquer um dos grupos ao final dos experimentos como apresentado na FIGURA 6.

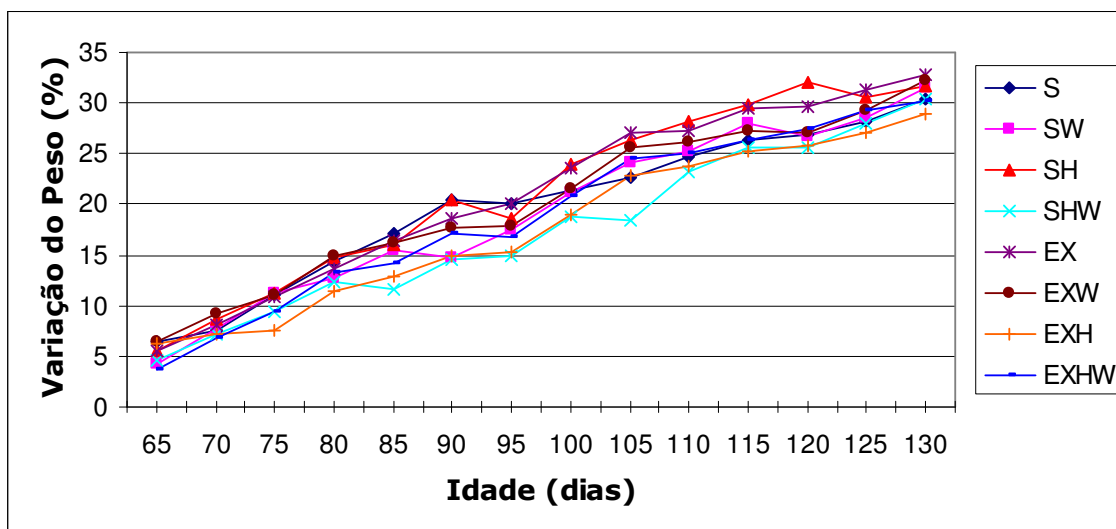


FIGURA 6 – Percentual de variação do peso corpóreo dos indivíduos dos grupos Sedentário (S), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB (SH), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado suplementado com HMB (EXH) e Exercitado suplementado com HMB portador de tumor (EXHW). Os dados estão apresentados como média de 8 indivíduos por grupo. O erro padrão da média não foi maior que 15%.

5.2 – Parâmetros relativos ao Tumor de Walker 256

5.2.1 - Peso dos Tumores

A massa tumoral teve maior desenvolvimento ($p < 0,05$), após 15 dias de implantação, no grupo sedentário (SW) pesando ao final de 15 dias 17g. Nos outros grupos (SHW, EXW e EXHW) o peso dos tumores foram de 11g em média, não havendo diferença significativa entre eles, contudo foram significativamente menores quando comparados ao SW ($p < 0,05$). Dado este representado na FIGURA 7.

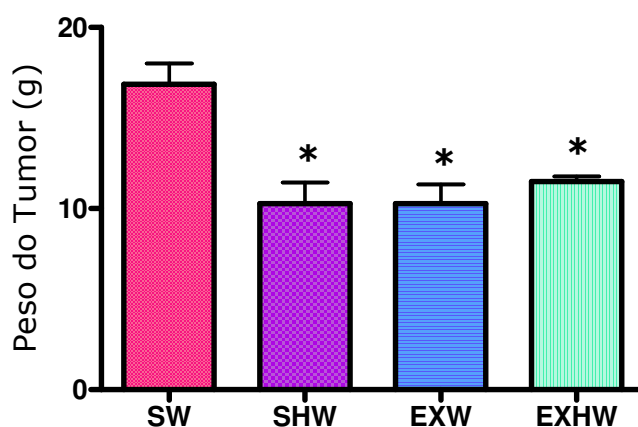


FIGURA 7 – Peso dos tumores (g) dos indivíduos dos grupos Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado portador de tumor (EXW) e Exercitado suplementado com HMB portador de tumor (EXHW). Os dados representam à média \pm EPM de 8 indivíduos por grupo. * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo SW.

5.2.2 – Peso corpóreo após a implantação do tumor

O grupo sedentário portador de tumor (SW) apresentou perda de 3,3g quinze dias após a inoculação do tumor, enquanto que em todos os outros grupos houve ganho significativo de peso em comparação com SW ($p < 0,05$). Nos animais SW a massa tumoral representou, em média, 4,5 % do peso corpóreo, valor significativamente maior ($p < 0,05$) quando comparado ao dos outros grupos com tumor SHW, EXW e EXHW, onde a massa tumoral não representou mais do que 3,1% do peso corporal. Esses resultados estão resumidos no QUADRO 1.

QUADRO 1 – Peso dos indivíduos antes e 15 dias após a inoculação do tumor, peso dos tumores ao final de 15 dias e ganho de peso no mesmo período.

	Peso no dia da inoculação do tumor	Peso 15 dias após a inoculação do tumor	Ganho de peso Bruto 15 dias após inoculação do tumor (g)	Peso do tumor (g) 15 dias a inoculação	Ganho de peso Real 15 dias após implantação do tumor (g)
S	323,4 ± 10,3	343,4 ± 10,5	19,15 ± 0,85	-	19,15 ± 0,85
SW	342,2 ± 11,6	356,0 ± 10,8	13,50 ± 0,29	16,8 ± 1,35	-3,30 ± 1,63*
SH	321,6 ± 7,4	346,8 ± 8,10	24,64 ± 0,56	-	24,64 ± 0,56β
SHW	313,0 ± 11,5	343,5 ± 13,0	29,77 ± 1,27	10,3 ± 1,10	19,5 ± 2,35
EX	324,8 ± 14,9	356,5 ± 12,24	25,92 ± 3,42	-	25,92 ± 3,42β
EXW	322,0 ± 15,9	349,3 ± 19,9	24,18 ± 2,61	10,3 ± 0,96	13,9 ± 2,00*α
EXH	318,3 ± 10,7	340,0 ± 11,9	24,50 ± 1,86	-	24,50 ± 1,86β
EXHW	298,0 ± 13,3	332,5 ± 10,9	30,60 ± 2,10	11,5 ± 0,30	19,1 ± 1,39

* p<0,05 quando comparado aos grupos S, SH, SHW, EX, EXH e EXHW.

α p<0,05 quando comparado ao grupo SW.

β p<0,05 quando comparado aos grupos S, SW, SHW, EXW e EXHW.

5.2.3 – Taxa de Proliferação das células do tumor de Walker 256

A suplementação com HMB induziu a uma redução de 12% na taxa de proliferação das células tumorais, a qual foi significativamente menor (p<0,05) quando comparado à dos animais sedentários sem suplementação (SW). O treinamento (EXW) e a adição de HMB aos animais com tumor treinados (EXHW) promoveu o mesmo efeito observado no grupo SHW e não houve diferença quando se comparou estes grupos (p>0,05) (FIGURA 8).

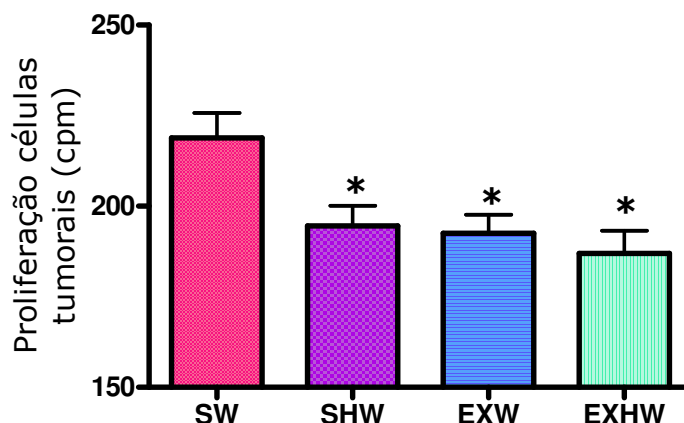


FIGURA 8 – Taxa de proliferação (cpm) das células do tumor de Walker 256, após 24h de cultivo na presença de (2-¹⁴C)-Timidina em DNA, obtidas de indivíduos dos grupos Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado portador de tumor (EXW) e Exercitado suplementado com HMB portador de tumor (EXHW). Os dados representam à média \pm EPM de 8 indivíduos por grupo. * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo SW.

5.3 – Peso do Baço

Nos animais sem tumor submetidos ou não a atividade física ou suplementado com HMB não apresentaram alterações no peso do baço (FIGURA 9). Por outro lado, a presença do tumor provocou aumento de 1,9 no peso do baço dos animais SW, 1,4 no SHW, 1,6 no EXW e 1,6 no EXHW quando comparados a seus respectivos pares. Interessantemente, o peso do baço no SW foi 1,3 vezes maior quando comparado ao dos grupos SHW, EXW e EXHW ($p < 0,05$).

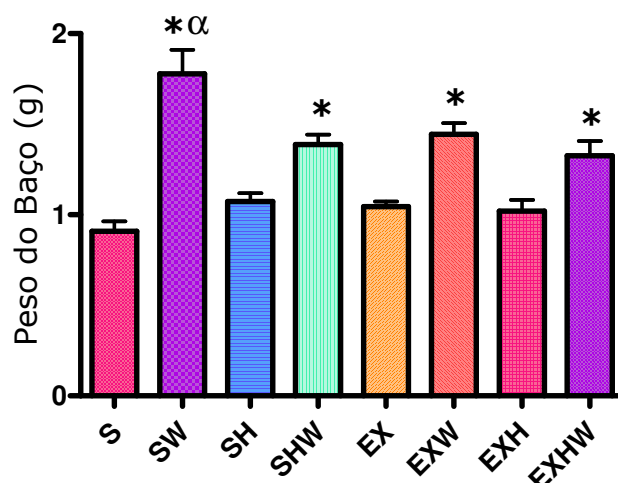


FIGURA 9 – Peso do baço dos indivíduos dos grupos Sedentário (S), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB (SH), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado suplementado com HMB (EXH) e Exercitado suplementado com HMB portador de tumor (EXHW). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de 8 indivíduos por grupo. * $p < 0,05$ quando comparado aos grupos S, SH, SHW, EX, EXW, EXH e EXHW. α $p < 0,05$ quando comparado aos grupos SHW, EXW e EXHW.

5.4 – Conteúdo de Glicogênio

5.4.1 – Conteúdo de Glicogênio Hepático

O conteúdo de glicogênio hepático ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) dos grupos S, SH e SHW manteve-se na faixa de 80, enquanto que o grupo SW apresentou conteúdo diminuído ($p < 0,05$), que foi de aproximadamente 67, quando comparado ao de qualquer outro grupo. Entre os grupos praticantes de atividade física houve maior armazenamento de glicogênio hepático ($p < 0,05$) nos grupos EX (100) e EXH (97), enquanto a presença do tumor nos grupos EXW e EXHW provocou queda no conteúdo de glicogênio para 78 e 76, respectivamente não sendo estatisticamente da dos sedentários, contudo foi menor que o dos grupos EX e EXH ($p < 0,05$). Todos os grupos apresentaram conteúdo de glicogênio significativamente maior quando comparados ao do SW. Ainda, EX e EXH incrementaram o conteúdo em

aproximadamente 1,3 vezes quando comparados aos demais grupos ($p < 0,05$) (FIGURA 10).

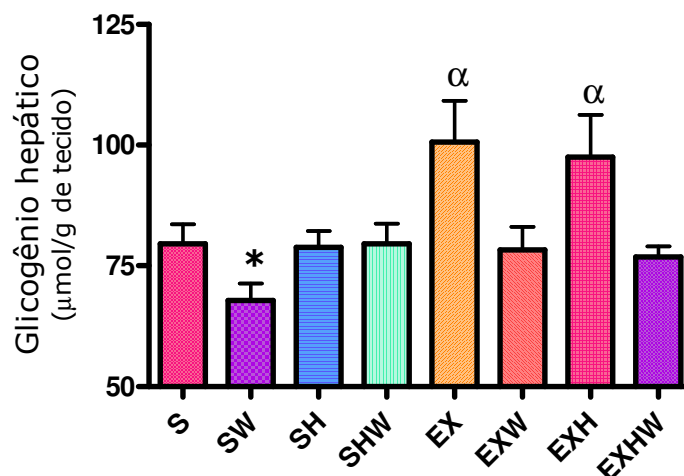


FIGURA 10 – Conteúdo de glicogênio hepático ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) dos grupos Sedentário (S), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB (SH), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado suplementado com HMB (EXH) e Exercitado suplementado com HMB portador de tumor (EXHW). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de 8 indivíduos por grupo. * $p < 0,05$ quando comparado aos grupos S, SH, SHW, EX, EXW, EXH e EXHW. α $p < 0,05$ quando comparado aos grupos S, SH, SHW, EXW e EXHW.

5.4.2 – Conteúdo de Glicogênio na Porção Branca do Músculo Gastrocnêmio

O conteúdo de glicogênio ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) na porção branca do músculo gastrocnêmio no grupo S foi de 16. A presença do tumor (SW) reduziu o conteúdo para 10, sendo estatisticamente diferente comparado ao do S ($p < 0,05$). A suplementação com HMB ao grupo sedentário (SH) e a presença do tumor (SHW) não alterou o conteúdo significativamente quando comparado ao S, mas foi maior que a do SW ($p < 0,05$). Os animais submetidos ao exercício (EX) e suplementados (EXH) apresentaram conteúdo de 18,6 e 18,8, respectivamente, os quais foram significativamente maiores quando comparados ao de qualquer outro grupo sem ou com tumor ($p < 0,01$). A presença do tumor nos grupos exercitados (EXW) e

suplementados (EXHW) fez com que o conteúdo caísse para 14,8 e 13,9, respectivamente, o qual foi similar à dos demais grupos ($p < 0,05$), mas superior à do SW ($p < 0,05$) (FIGURA 11).

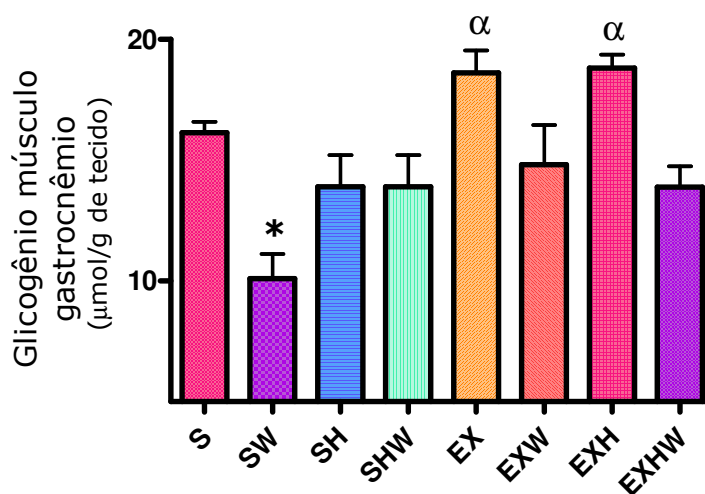


FIGURA 11 – Conteúdo de glicogênio da porção branca do músculo gastrocnêmio ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) dos grupos Sedentário (S), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB (SH), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado suplementado com HMB (EXH) e Exercitado suplementado com HMB portador de tumor (EXHW). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de 8 indivíduos por grupo. * $p < 0,05$ quando comparado aos grupos S, SH, SHW, EX, EXW, EXH e EXHW. α $p < 0,05$ quando comparado aos grupos S, SH, SHW, EXW e EXHW.

5.4.3 – Conteúdo de Glicogênio no Músculo Sóleo

O conteúdo de glicogênio ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) no músculo sóleo de ratos sedentários (S) foi de 21. Ao final de 15 dias da presença do tumor (SW) o conteúdo foi de 16 ($p < 0,05$ vs. S, SH, SHW, EX, EXW, EXH e EXHW). Indivíduos sedentários suplementados com HMB (SH) e ainda portadores de tumor (SHW) tiveram conteúdo de 21 e 22, o qual foi similar ao do grupo S ($p > 0,05$), mas superior ao do SW ($P < 0,05$). O exercício físico com ou sem tumor ou HMB incrementou o conteúdo

de glicogênio no músculo sóleo em 1,2 vezes ($p < 0,05$) quando comparado aos grupos S, SH e SHW (FIGURA 12).

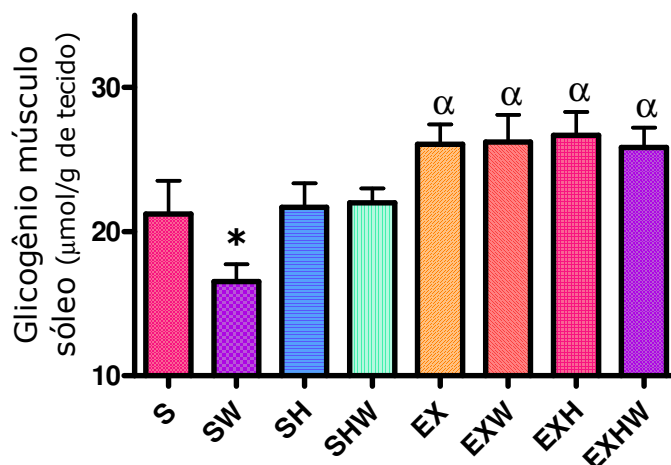


FIGURA 12 – Conteúdo de glicogênio no músculo sóleo ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) dos grupos Sedentário (S), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB (SH), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado suplementado com HMB (EXH) e Exercitado suplementado com HMB portador de tumor (EXHW). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de 8 indivíduos por grupo. * $p < 0,05$ quando comparado aos grupos S, SH, SHW, EX, EXW, EXH e EXHW. α $p < 0,05$ quando comparado aos grupos S, SH e SHW.

O QUADRO 2 resume os resultados relativos aos conteúdos de glicogênio hepático e muscular.

QUADRO 2 – Conteúdo de Glicogênio Hepático e Muscular ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) dos grupos experimentais.

	Conteúdo Glicogênio Hepático	Conteúdo Glicogênio no Músculo Gastrocnêmio	Conteúdo Glicogênio no Músculo Sóleo
S	79,62 \pm 3,95	16,14 \pm 0,45	21,22 \pm 2,28
SW	67,83 \pm 3,49 *	10,09 \pm 1,03 *	16,53 \pm 1,20 *
SH	78,84 \pm 3,37	13,89 \pm 1,31	21,67 \pm 1,67
SHW	79,59 \pm 4,09	13,90 \pm 1,30	31,99 \pm 1,01
EX	100,6 \pm 8,52 α	18,62 \pm 0,92 α	26,06 \pm 1,36 β
EXW	78,27 \pm 4,80	14,82 \pm 1,64	26,22 \pm 1,87 β

EXH	97,53 ± 8,73 α	18,81 ± 0,54 α	26,68 ± 1,61 β
EXHW	76,83 ± 2,18	13,88 ± 0,86	25,85 ± 1,34 β

* p<0,05 quando comparado aos grupos S, SH, SHW, EX, EXW, EXH e EXHW.

α p<0,05 quando comparado aos grupos S, SH, SHW, EXW e EXHW.

β p<0,05 quando comparado aos grupos S, SH e SHW.

5.5 – Parâmetros Plasmáticos

5.5.1 – Glicemia

Com exceção do grupo SW que apresentou glicemia na faixa de 75 mg/dL, todos os demais grupos apresentaram glicemia média de 110 mg/dL. A glicemia do grupo SW foi significativamente menor (p<0,05) quando comparada á dos demais grupos (FIGURA 13).

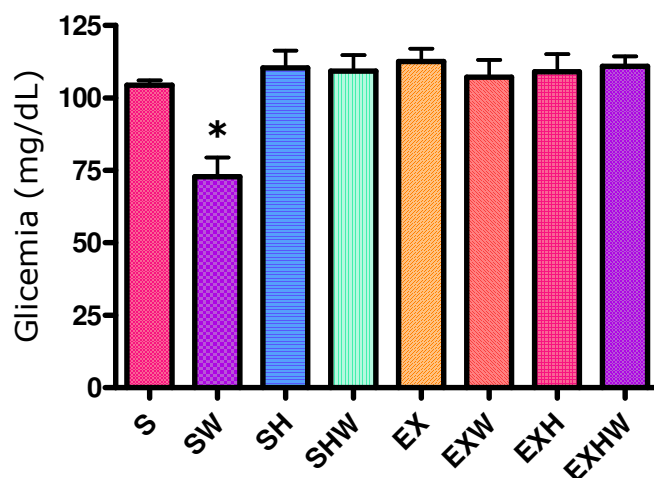


FIGURA 13 – Glicemia (mg/dL) dos grupos Sedentário (S), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB (SH), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado suplementado com HMB (EXH) e Exercitado suplementado com HMB portador de tumor (EXHW). Os dados estão apresentados como média ± EPM de 8 indivíduos por grupo. * p<0,05 quando comparado aos grupos S, SH, SHW, EX, EXW, EXH e EXHW.

5.5.2 – Concentração sérica de lactato

Na figura 14 está representada a concentração sérica de lactato. Os animais sedentários (S) apresentaram lactacidemia de 1mmol/L. A presença do tumor elevou a lactacidemia em 50% (1,5 mmol/L). A suplementação com HMB e ainda a presença do tumor (SH e SHW), respectivamente não alteraram a lactacidemia quando comparado ao S, mas foi diferente dá do SW ($p<0,05$). A atividade física na ausência ou presença do tumor ou com suplementação não alterou a lactacidemia, ficando esta similar à do S, mas diferente da do SW ($p<0,05$)

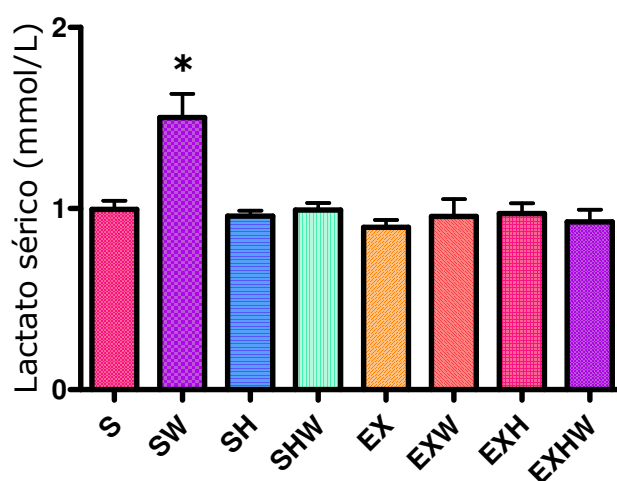


FIGURA 14 – Concentração de lactato sérico (mmol/L) dos grupos Sedentário (S), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB (SH), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado suplementado com HMB (EXH) e Exercitado suplementado com HMB portador de tumor (EXHW). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de 8 indivíduos por grupo. * $p<0,05$ quando comparado aos grupos S, SH, SHW, EX, EXW, EXH e EXHW.

5.5.3 – Concentração de Triacilglicerol (TAGs)

A presença do tumor (SW) induziu a uma elevação de 2 vezes na concentração de TAGs quando comparado ao controle (S), a qual foi significativa ($p<0,05$). A suplementação com HMB (SH) não modifica este parâmetro sendo similar ao do S. A suplementação de HMB aos animais sedentários com tumor

impediu elevação pronunciada da concentração sérica de TAGs (1,4 vezes vs. S), mas promoveu uma redução de 1,6 vezes quando comparada a SW ($p < 0,05$). A atividade física sem (EX) ou com suplementação (EXH) não provocaram alteração na concentração de TAGs quando comparadas ao S e SH, respectivamente ($p < 0,05$). Já nos animais exercitados e portadores de tumor (EXW) o efeito na concentração de TAGs foi similar á dos SHW. A suplementação com HMB aos animais com tumor e submetidos à atividade física não promoveu efeito adicional ao já induzido pela atividade física, sendo a concentração de TAGs nestes animais (EXHW) similar à do EXW e SHW (FIGURA 15).

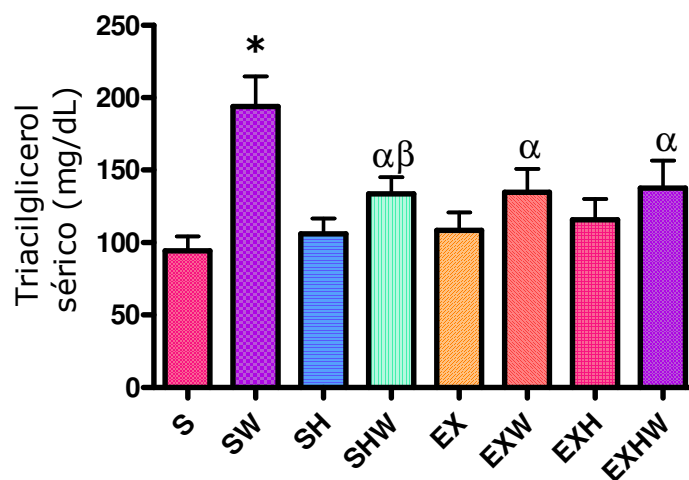


FIGURA 15 – Concentração de Triacilglicerol sérico (mg/dL) dos grupos Sedentário (S), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB (SH), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado suplementado com HMB (EXH) e Exercitado suplementado com HMB portador de tumor (EXHW). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de 8 indivíduos por grupo. * $p < 0,05$ quando comparado aos grupos S, SH, SHW, EX, EXW, EXH e EXHW. α $p < 0,05$ quando comparado ao grupo S. β $p < 0,05$ quando comparado ao grupo SH.

5.5.4 – Concentração de Colesterol Total

A concentração de colesterol total está apresentada na FIGURA 16. Nos grupos sedentários ou exercitados sem ou com suplementação (S, SH, EX, EXH) a concentração de colesterol não foi diferente entre eles sendo aproximadamente de 60 mg/dL ($p < 0,05$). Na presença do tumor todos os grupos apresentaram elevação na concentração para aproximadamente 74 mg/dL a qual foi significativamente maior quando comparada ao pareamento sem tumor ($p < 0,05$). A administração de HMB ao indivíduo treinado (EXHW) ou sedentário (SHW) não alterou a concentração de colesterol quando comparada à dos grupos SH ou EXH ($p > 0,05$)

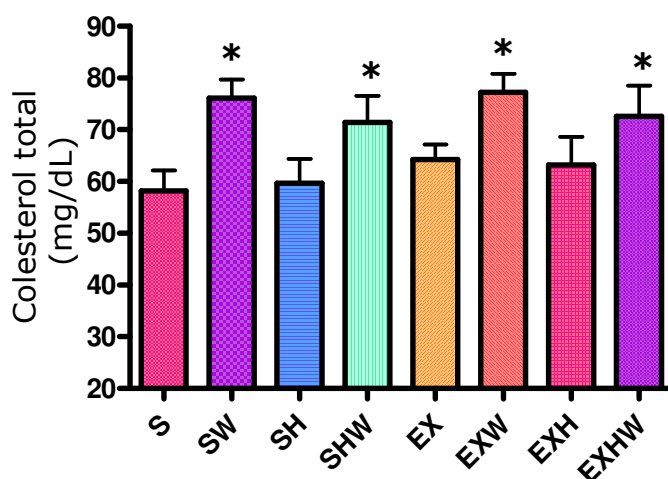


FIGURA 16 – Colesterol sérico total (mg/dL) dos grupos Sedentário (S), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB (SH), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado suplementado com HMB (EXH) e Exercitado suplementado com HMB portador de tumor (EXHW). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de 8 indivíduos por grupo. * $p < 0,05$ quando comparado ao seu grupo controle.

5.5.5 – Concentração de Colesterol HDL

A concentração de colesterol HDL (mg/dL) está apresentada na FIGURA 17. Nos indivíduos sedentários (S) a concentração de colesterol HDL foi de 26 e com a

presença do tumor, após 15 dias foi reduzida para 18 ($p < 0,05$ vs S). A suplementação com HMB aos grupos sedentários (SH e SHW) não alterou o concentração de colesterol HDL em relação ao sem suplementação (S), ficando por volta de 28 mg/dL. A prática de atividade física (EX), por sua vez, incrementou significativamente a concentração de colesterol HDL, a qual foi, em média, 1,4 vezes maior quando comparada à do S, SH e SHW e 1,9 vezes quando comparada à do SW ($p < 0,05$). O mesmo foi observado quando da suplementação ao grupo exercitado (EXH) em relação aos sedentários sem ou com tumor ($p < 0,05$), mas não foi diferente dá do EX ($p > 0,05$). A presença de tumor nos grupos exercitados (EXW) e ainda suplementados (EXHW) fez com que a concentração de colesterol HDL retornasse aos valores dos sedentários (S) e conseqüentemente menores do que os do EX e EXH ($p < 0,05$).

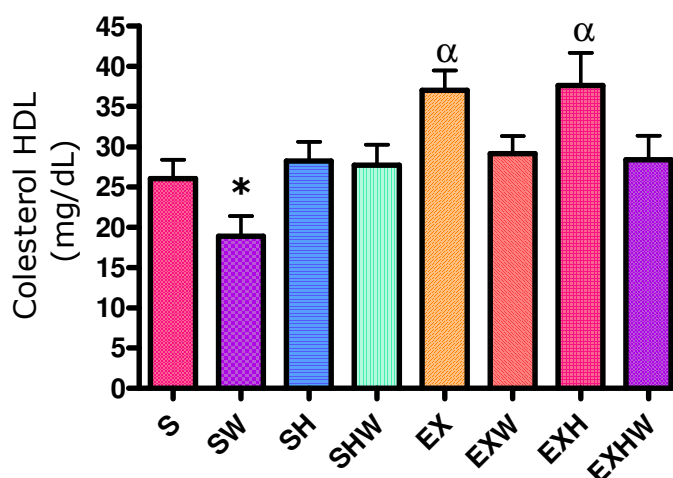


FIGURA 17 – Colesterol HDL plasmático (mg/dL) dos grupos Sedentário (S), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB (SH), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado suplementado com HMB (EXH) e Exercitado suplementado com HMB portador de tumor (EXHW). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de 8 indivíduos por grupo. * $p < 0,05$ quando comparado aos grupos S, SH, SHW, EX, EXW, EXH e EXHW. α $p < 0,05$ quando comparado aos grupos SH, SHW, EXW e EXHW.

5.5.6 – Concentração de Colesterol VLDL

A concentração de colesterol VLDL no grupo sedentário com tumor foi 38 mg/dL. Valor este 2 vezes maior que o dos grupos S, SH, EX e EXH ($p < 0,05$). Os grupos portadores de tumor e exercitados com ou sem suplementação (EXW e EXHW) e com tumor e suplementados (SHW) apresentaram concentração de colesterol VLDL 1,4 vezes maior que à do grupo S ($p < 0,05$). No entanto, não houve diferença significativa destes grupos quando comparados a seus respectivos controles ($p > 0,05$), com exceção do grupo SHW que apresentou aumento de 1,3 vezes na concentração de colesterol VLDL quando comparado ao grupo SH ($p < 0,05$) (FIGURA 18).

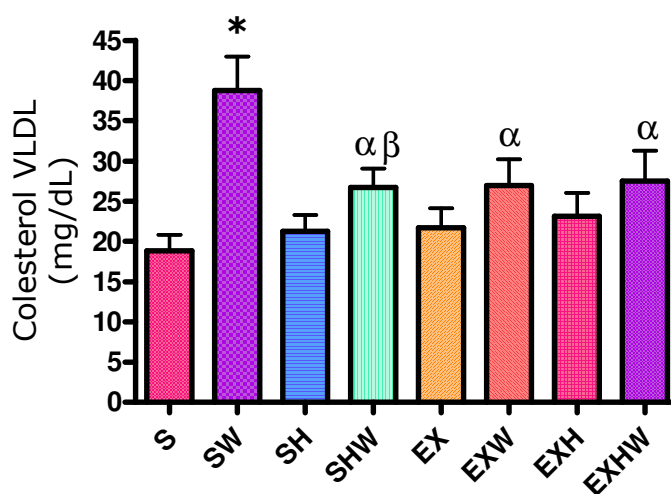


FIGURA 18 – Concentração de colesterol VLDL plasmáticos (mg/dL) dos grupos Sedentário (S), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB (SH), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado suplementado com HMB (EXH) e Exercitado suplementado com HMB portador de tumor (EXHW). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de 8 indivíduos por grupo. * $p < 0,05$ quando comparado aos grupos S, SH, SHW, EX, EXW, EXH e EXHW. α $p < 0,05$ quando comparado ao grupo S. β $p < 0,05$ quando comparado ao grupo SH.

5.5.7 – Concentração de Colesterol LDL

A concentração de colesterol LDL foi de aproximadamente 26 mg/dL nos grupos portadores de tumor com ou sem suplementação e praticante ou não de atividade física (SW, SHW, EXW e EXHW), valor este significativamente maior ao 16 mg/dL apresentado pelos seus respectivos grupos controle sem tumor (S, SH, EX, EXH) ($p < 0,05$) (FIGURA 19).

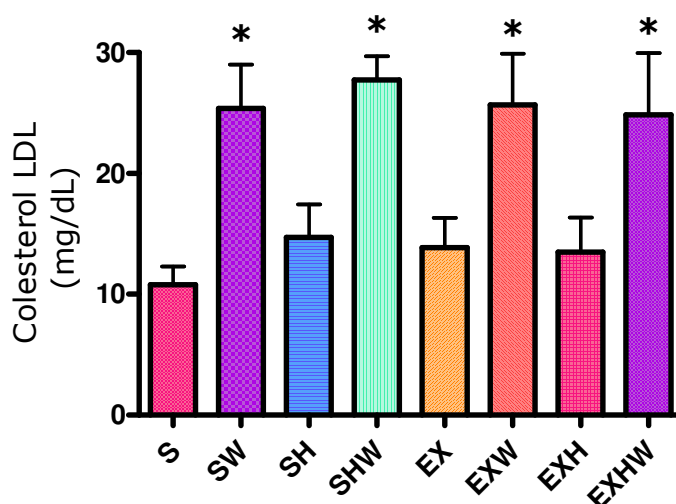


FIGURA 19 – Concentração de colesterol LDL (mg/dL) dos grupos Sedentário (S), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB (SH), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado suplementado com HMB (EXH) e Exercitado suplementado com HMB portador de tumor (EXHW). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de 8 indivíduos por grupo. * $p < 0,05$ quando comparado aos grupos S, SH, EX e EXH.

Os dados relativos à glicemia, lactato, TAGs e as diferentes frações de colesterol estão resumidos no QUADRO 3.

QUADRO 3 – Resumo dos dados Séricos: Glicemia, Lactato, TAGs e Frações do Colesterol.

	Glicemia (mg/dL)	Lactato (mmol/L)	TAGs (mg/dL)	Col. Total (mg/dL)	Col. HDL (mg/dL)	Col. VLDL (mg/dL)	Col. LDL (mg/dL)
S	104,5 ±	0,995 ±	94,23 ±	58,20 ±	26,06 ±	18,85 ±	10,79 ±
	1,63	0,04	9,94	3,96	2,33	1,99	1,50
SW	72,86 ±	1,502 ±	193,8 ±	76,08 ±	18,89 ±	38,76 ±	25,39 ±
	6,70 *	0,13 *	20,92 *	3,59 α	2,49 *	4,18 *	3,61 ¥
SH	110,4 ±	0,957 ±	106,1 ±	59,64 ±	28,23 ±	21,23 ±	14,71 ±
	5,92	0,03	10,44	4,70	2,37	2,08	2,72
SHW	109,4 ±	0,990 ±	133,6 ±	71,38 ±	27,68 ±	26,72 ±	27,74 ±
	5,52	0,04	11,59 αβ	5,18 α	2,55	2,31 αβ	1,98 ¥
EX	112,6 ±	0,895 ±	108,4 ±	64,22 ±	37,01 ±	21,69 ±	13,86 ±
	4,36	0,04	12,24	2,89	2,44 £	2,44	2,45
EXW	107,2 ±	0,956 ±	134,7 ±	77,20 ±	29,15 ±	26,95 ±	25,70 ±
	5,94	0,09	16,28 α	3,59 α	2,17	3,25 α	4,22 ¥
EXH	109,1 ±	0,971 ±	115,7 ±	63,21 ±	37,60 ±	23,13 ±	13,48 ±
	6,06	0,05	14,46	5,41	4,09 £	2,89	2,88
EXHW	111,0 ±	0,926 ±	137,6 ±	72,57 ±	28,41 ±	27,51 ±	24,86 ±
	3,40	0,06	18,99 α	5,93 α	2,97	3,79 α	5,09 ¥

* $p < 0,05$ quando comparado aos grupos S, SH, SHW, EX, EXW, EXH e EXHW.

α $p < 0,05$ quando comparado ao grupo S.

β $p < 0,05$ quando comparado ao grupo SH.

£ $p < 0,05$ quando comparado aos grupos S, SH, SW, EXW e EXHW.

¥ $p < 0,05$ quando comparado aos grupos S, SH, EX e EXH.

5.6 – Parâmetros Funcionais de Células Polimorfonucleares Sanguíneas

5.6.1 – Capacidade Fagocítica

A capacidade fagocítica das células polimorfonucleares sanguíneas (PMN) do grupo sedentário sem tumor e sem suplementação (S) foi $0,500/10^5$ células. Já a dos grupos SW e SH apresentaram capacidade fagocítica 1,7 vezes maior, quando comparada à do grupo S ($p < 0,05$), enquanto que no grupo sedentário, suplementado e portador de tumor (SHW) a capacidade fagocítica foi 2,2 vezes maior quando comparada à do S e 1,2 vezes maior em comparação à dos grupos SW e SH ($p < 0,05$). Todos os grupos exercitados apresentaram capacidade fagocítica, no mínimo, 2,5 vezes maior que à do grupo S ($p < 0,05$). Em adição, a capacidade

fagocítica das células dos grupos exercitados EX, EXW, EXH e EXHW foi 25% maior que à dos grupos SW e SH. As células do grupo EXH foram as que apresentaram a maior capacidade fagocítica, aproximadamente $1,200/10^5$ células, sendo significativamente maior quando comparada a todos os demais grupos ($P < 0,05$). Esses dados estão apresentados na FIGURA 20.

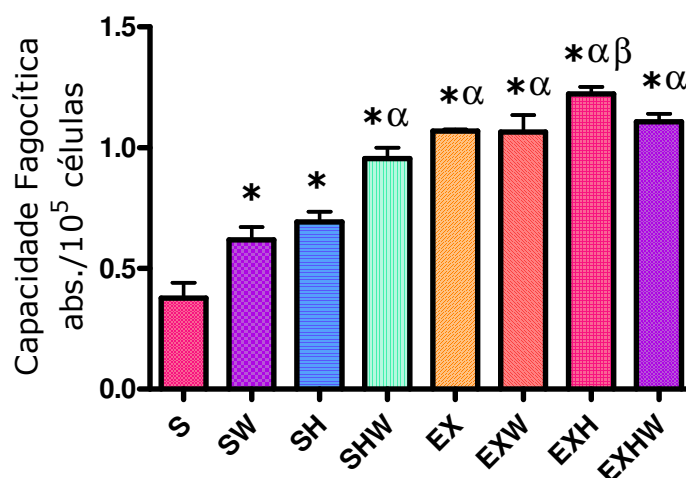


FIGURA 20 – Capacidade Fagocítica de Células Polimorfonucleares sanguíneas dos grupos Sedentário (S), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB (SH), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado suplementado com HMB (EXH) e Exercitado suplementado com HMB portador de tumor (EXHW). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de 8 indivíduos por grupo. * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo S. α $p < 0,05$ quando comparado aos grupos SW e SH. β $p < 0,05$ quando comparado ao grupo SHW, EX, EXW e EXHW.

5.6.2 – Volume Lisossomal

A presença do tumor, nos animais sedentários (SW), induziu aumento de 1,5 vezes no volume lisossomal das células PMN quando comparado aos dos sedentários sem tumor (S). A suplementação com HMB aos animais sedentários não alterou o volume lisossomal comparado ao S ($p < 0,05$), mas a presença do tumor no grupo suplementado (SHW) induziu aumento do volume lisossomal similar aquele observado no SW. A prática de atividade física induziu um aumento de 2 vezes do

volume lisossomal das células PMN no grupo exercitado quando comparado ao S e SH e uma elevação de 1,3 vezes quando comparada àquela das células PMN dos grupos SW e SHW ($p < 0,05$). A presença do tumor no grupo exercitado (EXW) não alterou este parâmetro quando comparado ao EX ($p < 0,05$). Nos grupos exercitados e suplementados (EXH) e exercitados suplementados e portadores de tumor (EXHW) o volume lisossomal das células PMN foi maior apenas quando comparado às células dos grupos SW e SHW ($p < 0,05$) (FIGURA 21).

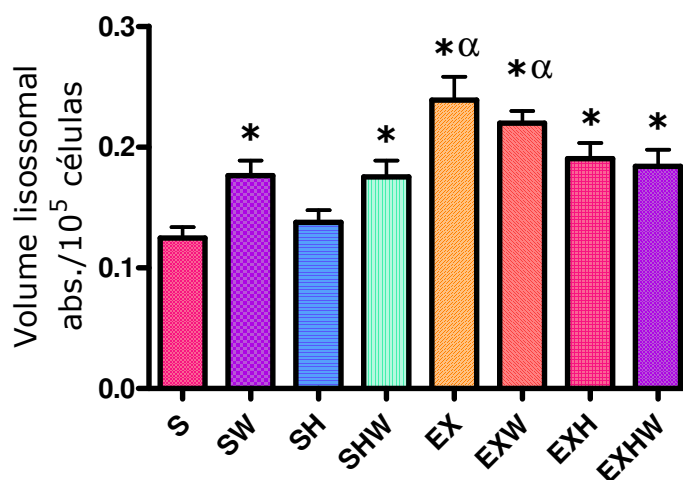


FIGURA 21 – Volume Lisossomal de Células Polimorfonucleares sanguíneas dos grupos Sedentário (S), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB (SH), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado suplementado com HMB (EXH) e Exercitado suplementado com HMB portador de tumor (EXHW). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de 8 indivíduos por grupo. * $p < 0,05$ quando comparado aos grupos S e SH. α $p < 0,05$ quando comparado aos grupos SW e SHW.

5.6.3 – Produção de Ânion Superóxido

A produção de ânion superóxido pelas células PMN dos grupos SW, SHW, EX, EXW, ESHW foi 10% maior ($p < 0,05$) quando comparada à dos grupos sedentário (S) e sedentário suplementado (SH) que apresentaram produção média, de $0,770/10^5$ células. O grupo exercitado e suplementado (EXH) teve ainda aumento

de 12% na produção de ânions superóxido quando comparada à dos grupos SW, SHW, EX, e EXHW ($p < 0,05$), como pode ser observado na FIGURA 22.

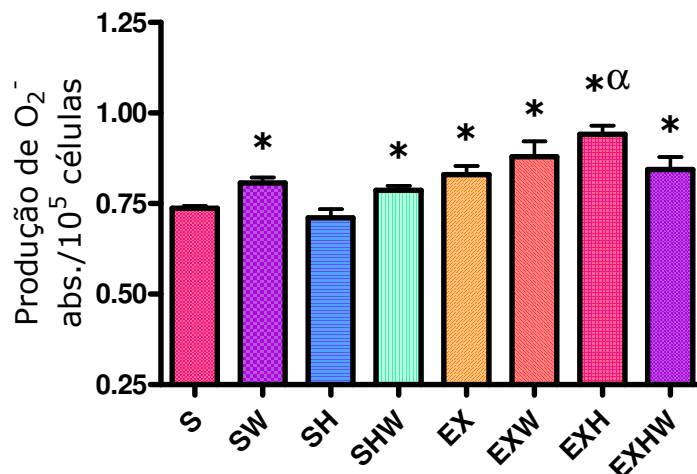


FIGURA 22 – Produção de ânion superóxido pelas Células Polimorfonucleares sanguíneas dos grupos Sedentário (S), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB (SH), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado suplementado com HMB (EXH) e Exercitado suplementado com HMB portador de tumor (EXHW). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de 8 indivíduos por grupo. * $p < 0,05$ quando comparado aos grupos S e SH. α $p < 0,05$ quando comparado aos grupos SW, SHW, EX, e EXHW.

5.6.4 – Produção de Peróxido de Hidrogênio

A produção de H_2O_2 pelas células PMN está apresentada na FIGURA 23. A produção no grupo sedentário sem tumor ou suplementação (S) foi de $62 \mu\text{mol}/10^5$ células, e significativamente menor quando comparado à de qualquer outro grupo. ($p < 0,05$), os quais apresentaram aumento de no mínimo 10% em relação ao grupo S. O grupo exercitado com tumor (EXW) apresentou produção de $78 \mu\text{mol}/10^5$ células, a qual foi significativamente maior ($p < 0,05$) quando comparada à do seu controle SW, assim como à dos grupos SH, EX e EXHW.

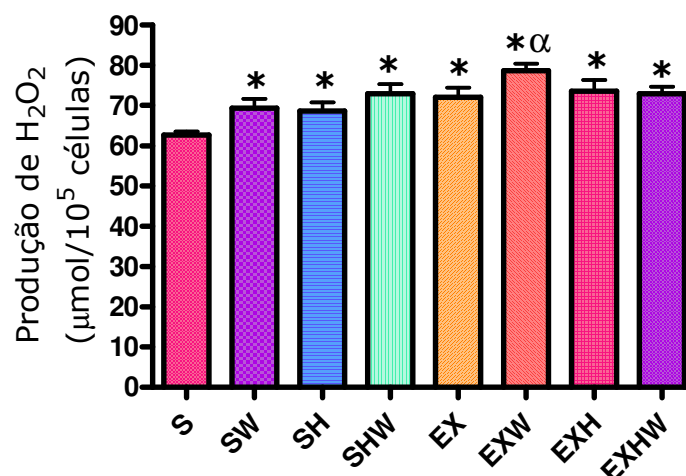


FIGURA 23 – Produção de peróxido de hidrogênio pelas Células Polimorfonucleares sanguíneas dos grupos Sedentário (S), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB (SH), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado suplementado com HMB (EXH) e Exercitado suplementado com HMB portador de tumor (EXHW). Os dados estão apresentados como média ± EPM de 8 indivíduos por grupo. * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo S. α $p < 0,05$ quando comparado aos grupos SW, SH, EX e EXHW.

O resumo dos dados funcionais das células polimorfonucleares sanguíneas está apresentado no QUADRO 4.

QUADRO 4 – Resumo dos dados funcionais das células polimorfonucleares sanguíneas, representados como absorbância ou $\mu\text{mol}/10^5$ céls.

	Capacidade Fagocítica abs. /10 ⁵ céls	Volume Lisossomal abs. /10 ⁵ céls	Produção de O ₂ ⁻ abs. /10 ⁵ céls	Produção de H ₂ O ₂ ($\mu\text{mol}/10^5$ céls)
S	0,37 ± 0,06	0,12 ± 0,01	0,73 ± 0,01	62,7 ± 0,84
SW	0,61 ± 0,05 *	0,17 ± 0,01 β	0,80 ± 0,01 β	69,4 ± 2,26 *
SH	0,69 ± 0,04 *	0,13 ± 0,01	0,71 ± 0,02	68,6 ± 2,19 *
SHW	0,95 ± 0,04 * ^{α}	0,17 ± 0,01 β	0,78 ± 0,01 β	72,9 ± 2,33 *
EX	1,06 ± 0,01 * ^{α}	0,23 ± 0,01 $\beta\gamma$	0,82 ± 0,02 β	72,1 ± 2,36 *
EXW	1,06 ± 0,06 * ^{α}	0,21 ± 0,01 $\beta\gamma$	0,87 ± 0,04 β	78,6 ± 1,77 * ^{γ}
EXH	1,22 ± 0,02 * ^{α}	0,19 ± 0,01 β	0,94 ± 0,02 $\beta\epsilon$	73,5 ± 2,80 *
EXHW	1,10 ± 0,03 * ^{α}	0,18 ± 0,01 β	0,84 ± 0,03 β	72,9 ± 1,74 *

* $p < 0,05$ quando comparado ao grupos S.

α $p < 0,05$ quando comparado ao grupo SW e SH.

β p<0,05 quando comparado aos grupos S e SH.

γ p<0,05 quando comparado aos grupos SW e SHW.

£ p<0,05 quando comparado aos grupos SW, SHW, EX, e EXHW.

¥ p<0,05 quando comparado aos grupos SW, SH, EX e EXHW.

5.7 – Parâmetros Funcionais de Macrófagos Peritoneais

5.7.1 – Capacidade Fagocítica

A capacidade fagocítica dos macrófagos peritoneais obtidos do grupo sedentário (S) foi 0,71 nm/10⁵ células. Esta foi significativamente menor quando comparado a qualquer grupo sedentário ou exercitado (p<0,05), os quais, por sua vez, apresentaram capacidade fagocítica 8% maior em média. Não houve diferença significativa ao compararem-se os demais grupos SW, SH, SHW, EX, EXW, EXH e EXHW (p>0,05). Os resultados referentes à capacidade fagocítica dos macrófagos peritoneais estão apresentados na FIGURA 24.

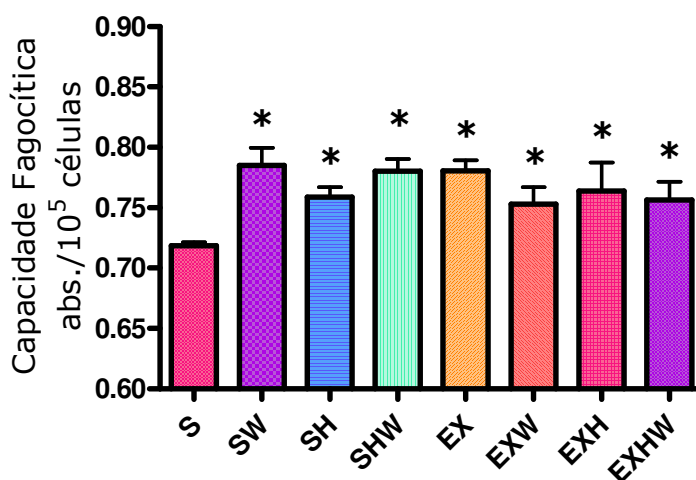


FIGURA 24 – Capacidade Fagocítica dos Macrófagos Peritoneais dos indivíduos dos grupos Sedentário (S), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB (SH), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado suplementado com HMB (EXH) e Exercitado suplementado com HMB portador de

tumor (EXHW). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de 6 indivíduos por grupo. * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo S.

5.7.2 – Volume Lisossomal

O volume lisossomal dos macrófagos obtidos dos animais dos grupos sedentário (S) e sedentário suplementados (SH) foi de $0,210/10^5$ células. Este foi em média, 16% menor e significativamente diferente quando comparado ao dos grupos SW, SHW, EX, EXW, EXH e EXHW. No grupo EXH o volume lisossomal estava aumentado ($0,260/10^5$ células) quando comparado aos grupos SW e SHW ($0,240/10^5$ células) ($p < 0,05$), mas não apresentou diferença significativa após comparação com qualquer outro grupo praticante de atividade física ($p > 0,05$) (FIGURA 25).

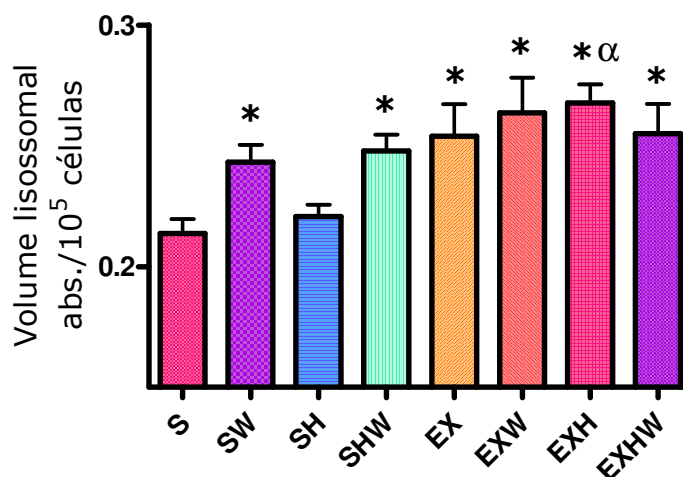


FIGURA 25 – Volume Lisossomal dos Macrófagos Peritoneais dos indivíduos dos grupos Sedentário (S), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB (SH), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado suplementado com HMB (EXH) e Exercitado suplementado com HMB portador de tumor (EXHW). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de 6 indivíduos por grupo. * $p < 0,05$ quando comparado aos grupos S e SH. α $p < 0,05$ quando comparado aos grupos SW e SHW.

5.7.3 – Produção de ânion Superóxido

Os grupos SW, SH, SHW, EX, EXW, EXH e EXHW apresentaram produção de ânion superóxido, pelos macrófagos peritoneais, significativamente aumentada ($p < 0,05$) quando em comparação com à do grupo S, que apresentou produção de $0,745/10^5$ células. A produção de ânion superóxido dos grupos EXW, EXH e EXHW foi em média $0,875/10^5$ células, valor este significativamente maior ($p < 0,05$) que $0,780/10^5$ células produzido pelos grupos SW, SHW e EX. Não houve diferença significativa entre esses grupos e o grupo sedentário suplementado (SH) ($p > 0,05$). Esses dados estão apresentados na FIGURA 26.

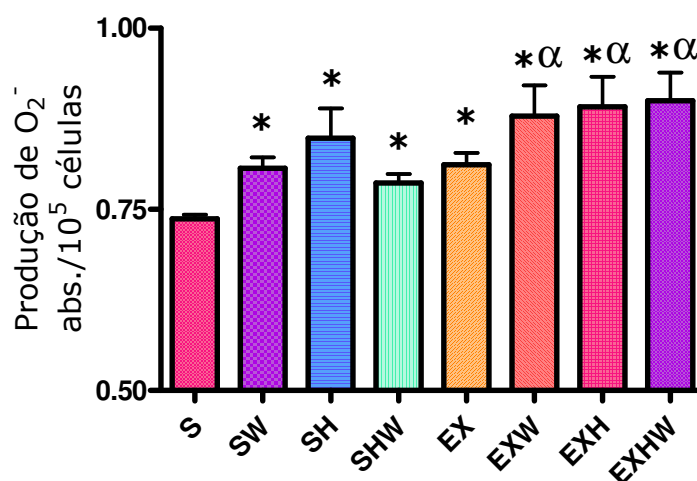


FIGURA 26 – Produção de ânion superóxido pelos Macrófagos Peritoneais dos indivíduos dos grupos Sedentário (S), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB (SH), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado suplementado com HMB (EXH) e Exercitado suplementado com HMB portador de tumor (EXHW). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de 6 indivíduos por grupo. * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo S. α $p < 0,05$ quando comparado aos grupos SW, SHW e EX.

5.7.4 – Produção de Peróxido de Hidrogênio

A produção de peróxido de hidrogênio pelos macrófagos peritoneais está apresentada na FIGURA 27, onde se observa produção de 37 $\mu\text{mol}/10^5$ células pelo grupo sedentário sem tumor e sem suplementação (S). Todos os demais grupos apresentaram produção, no mínimo, 7% maior quando comparada à do grupo S ($p < 0,05$). O grupo sedentário com tumor (SW) apresentou produção 29% maior quando comparada à do S ($p < 0,05$) e aumentou significativo ($p < 0,05$) de 22% quando comparada à dos grupos SH, SHW, EX, EXW, EXH e EXHW, os quais não apresentaram diferença significativa entre si ($p > 0,05$).

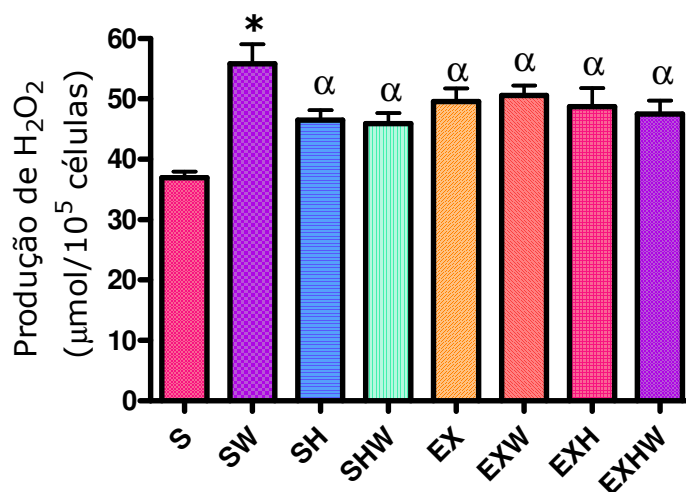


FIGURA 27 – Produção de Peróxido de Hidrogênio pelos Macrófagos Peritoneais dos indivíduos dos grupos Sedentário (S), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário suplementado com HMB (SH), Sedentário suplementado com HMB portador de tumor (SHW), Exercitado (EX), Exercitado portador de tumor (EXW), Exercitado suplementado com HMB (EXH) e Exercitado suplementado com HMB portador de tumor (EXHW). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de 6 indivíduos por grupo. * $p < 0,05$ quando comparado aos grupos S, SH, SHW, EX, EXW, EXH e EXHW. α $p < 0,05$ quando comparado aos grupos S.

O QUADRO 5 representa a síntese dos dados para os parâmetros funcionais analisados nos macrófagos peritoneais.

QUADRO 5 – Resumo dos dados funcionais dos macrófagos peritoneais, representados como absorvância ou $\mu\text{mol}/10^5$ céls.

	Capacidade Fagocítica abs. /10 ⁵ céls	Volume Lisossomal abs. /10 ⁵ céls	Produção de O ₂ ⁻ abs. /10 ⁵ céls	Produção de H ₂ O ₂ ($\mu\text{mol}/10^5$ céls)
S	0,71 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,73 ± 0,01	37,0 ± 1,00
SW	0,78 ± 0,01 *	0,24 ± 0,01 α	0,80 ± 0,01 *	55,8 ± 3,26 * ¥
SH	0,75 ± 0,01 *	0,22 ± 0,01	0,84 ± 0,02 *	46,5 ± 1,70 *
SHW	0,78 ± 0,01 *	0,24 ± 0,01 α	0,78 ± 0,01 *	45,9 ± 1,77 *
EX	0,78 ± 0,01 *	0,25 ± 0,01 α	0,81 ± 0,02 *	49,6 ± 2,16 *
EXW	0,75 ± 0,02 *	0,26 ± 0,01 α	0,87 ± 0,04 * β	50,6 ± 1,63 *
EXH	0,76 ± 0,02 *	0,26 ± 0,01 $\alpha\gamma$	0,89 ± 0,02 * β	48,7 ± 3,06 *
EXHW	0,75 ± 0,01 *	0,25 ± 0,01 α	0,89 ± 0,03 * β	47,5 ± 2,18 *

* p<0,05 quando comparado ao grupos S.

α p<0,05 quando comparado aos grupos S e SH.

β p<0,05 quando comparado aos grupos SW, SHW e EX.

γ p<0,05 quando comparado aos grupos SW e SHW.

£ p<0,05 quando comparado ao grupo SH.

¥ p<0,05 quando comparado aos grupos S, SH, SHW, EX, EXW, EXH e EXHW.

6 – DISCUSSÃO

Em muitas doenças como câncer, síndrome da imunodeficiência adquirida, sepse e falência cardíaca crônica, pacientes morrem como consequência direta da caquexia. Processo este caracterizado por catabolismo intenso da musculatura esquelética e caóticas anormalidades no metabolismo de gorduras e carboidratos (MaC DONALD et al., 2003). As mudanças no quadro metabólico dos indivíduos caquéticos também vêm acompanhadas por alterações no eixo neuroimunoendócrino (FIGURA 28) (LANGHAM, 2002). Todas estas modificações endócrinas e metabólicas se mostram irreversíveis mesmo com o suporte nutricional adequado (LAVIANO et al., 2002; MARTIGNONI; FRIESS, 2003). Estudos epidemiológicos dão suporte de que o exercício regular aumenta a resistência a infecções, como resfriados, contudo o exercício em intensidades muito elevadas está associado ao aumento de infecções no trato respiratório superior (NIEMAN; PEDENSEN, 1999). O efeito positivo do exercício em outras doenças também é defendido, e existem evidências crescentes de que a atividade física, como estilo de vida, oferece proteção contra malignidades (HOFFMAN-GOETZ; HUSTED, 1995). Alguns autores propõem que o exercício tenha efeito condicionante temporal, o qual regula o eixo neuroimunoendócrino, aumentando a sobrevivência e a qualidade de vida (COSTA ROSA, 2004). A atividade física regular e o exercício vêm sendo muito utilizados como prevenção ou tratamento terapêutico para inúmeras situações fisiopatológicas, incluindo doenças cardiovasculares e alguns aspectos da senescência (CONN et al., 2003). O imenso potencial da aplicação do exercício em várias condições parece estar correlacionado com o fato da promoção de adaptações em todos os sistemas do organismo (COSTA ROSA, 2004). Para certos tipos de câncer o efeito profilático do exercício já está bem estabelecido (ZIELINSKI et al., 2004).

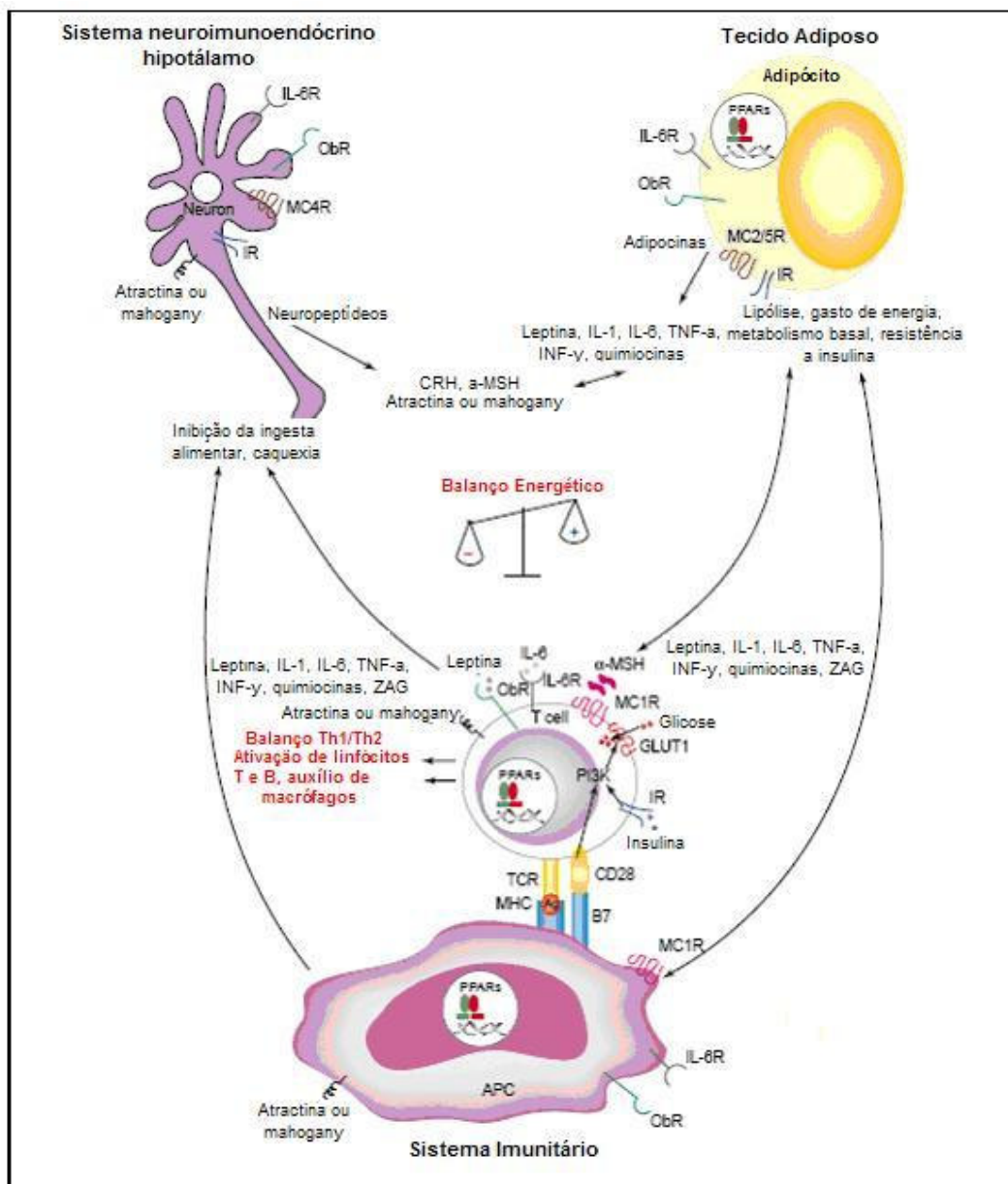


FIGURA 28 – Representação esquemática do eixo neuroimunoendócrino. Moléculas providas da resposta imunitária e da regulação do metabolismo energético tem importantes funções nos mais variados tecidos resultando em um complexo sistema de interações e respostas a determinados estímulos (MATARASE; LA CASA, 2004 modificado).

Os resultados deste trabalho demonstram que ratos submetidos a protocolo de exercício de saltos durante 8 semanas tiveram diminuição da taxa de crescimento tumoral (FIGURA 7), preservação da massa corporal dos indivíduos (QUADRO 1) e atenuação de algumas mudanças no quadro metabólico causado pela síndrome da caquexia (QUADROS 2 e 3). Segundo Costa Rosa (2004) muitas das mudanças

metabólicas e hormonais observadas durante a caquexia podem ser contrabalançadas pelo exercício regular, conhecido por promover mudanças que podem ser sustentadas por mais de 24h no perfil hormonal e também modular positivamente a resposta imunitária.

Outros estudos também demonstraram efeitos benéficos do exercício em animais portadores de tumor. Westerlind et al. (2003) reportaram retardo no crescimento tumoral em ratos que faziam 30 minutos de natação 5 dias por semana durante 8 semanas. Em adição, Zielinsk et al. (2004) demonstraram que o exercício pode influenciar o crescimento tumoral, resultando em regressão e atraso no crescimento. A progressão ou regressão do processo neoplásico é regulada por múltiplos fatores como reações inflamatórias, fatores angiogênicos, citocinas e hormônios (BRIGATI, 2002). Mudanças no micro ambiente tumoral podem talvez influenciar o crescimento e proliferação das células, essas alterações envolvem possivelmente a infiltração e atividade de células do sistema imunitário na massa tumoral (FIGURA 29) (ZIELINSK et al., 2004). Neutrófilos representam 50-60% do *pool* de leucócitos circulantes e são a maioria das PMN, enquanto os macrófagos estão presentes nos mais variados tecidos. Estes dois tipos celulares fazem parte do sistema imunitário inato e estão envolvidos nas respostas inflamatórias assim como na defesa contra células neoplásicas (LEVEY et. al., 2001). A participação em inflamações e suas ações citotóxicas envolvem a produção de ROS e a fagocitose. O exercício, na intensidade correta, pode modificar positivamente a atividade anti-câncer de neutrófilos e macrófagos por mecanismos envolvendo o aumento da expressão de moléculas de adesão CD11b, a qual pode contribuir para a diapedese e extravasamento dos neutrófilos para os tecidos (SMITH et al. 1996) e aumento da capacidade citotóxica (LU et al., 1999). O aumento do peso baço nos grupos com tumor (SW, SHW, EXW e EXHW) quando comparado ao dos grupos sem tumor (FIGURA 9) mostra que as células tumorais funcionam como estímulo antigênico para o sistema imunitário dos portadores de tumor.

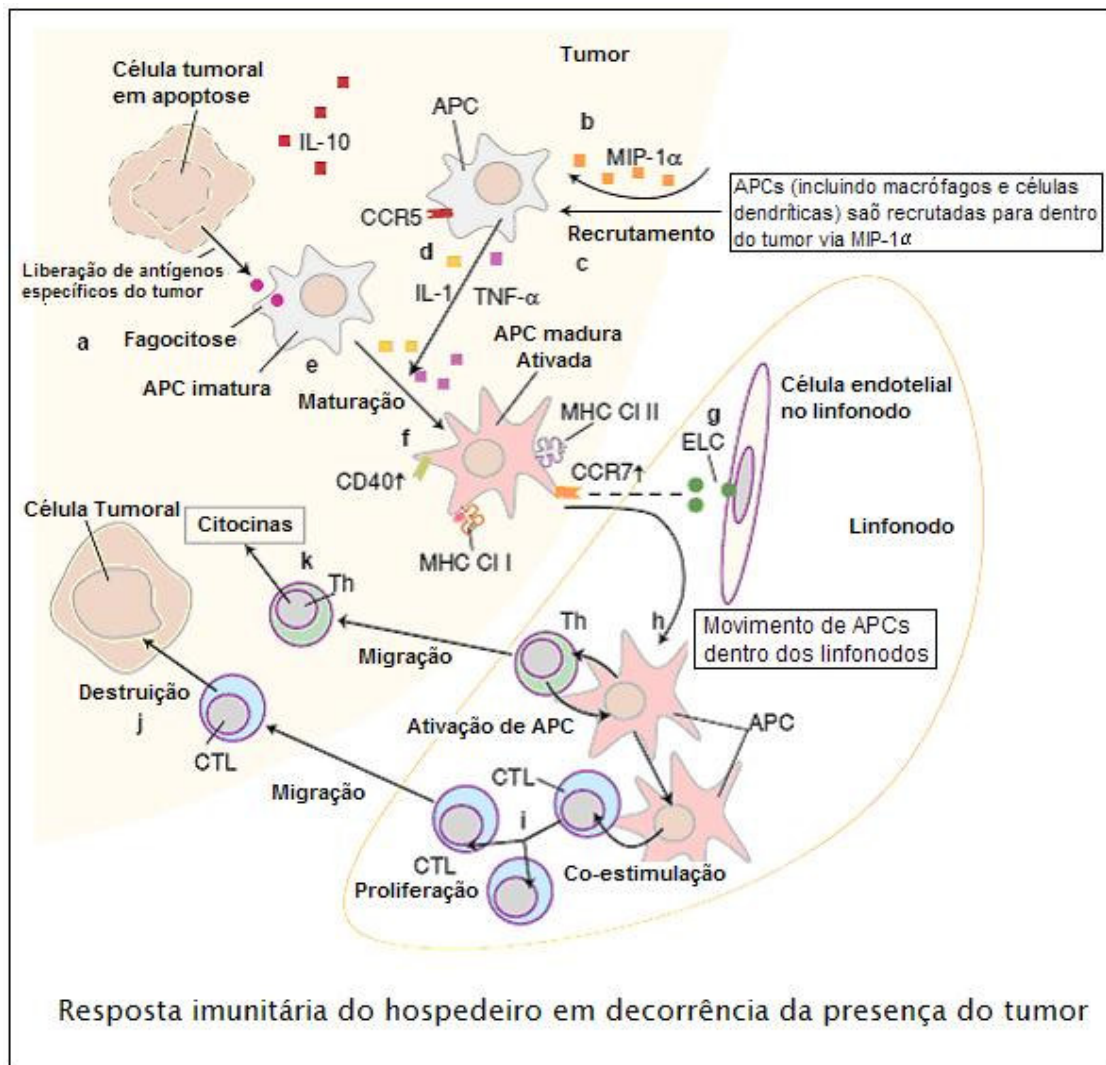


FIGURA 29 – Resposta imunitária decorrente da presença do tumor. Células do sistema imunitário do hospedeiro migram para o tecido tumoral onde tem ações citotóxicas que podem influenciar no crescimento do tumor.

Os parâmetros imunitários de macrófagos peritoneais e PMN dos indivíduos treinados, determinada pela atividade fagocítica, produção de H_2O_2 , ânion superóxido e pelo volume lisossomal, estavam significativamente elevados quando comparados aos dos grupos sedentários (QUADROS 4 e 5). Este resultado sugere que estas células poderiam influenciar negativamente o crescimento do tumor de Walker 256 nos indivíduos treinados. Murphy et al., 2004 demonstraram que camundongos, treinados em por 10 dias, tiveram o número de metástases do carcinoma B16 diminuído quando comparado ao grupo do sedentário, em que o menor número de metástases foi relacionado à maior ação citotóxica anti-tumoral dos macrófagos.

O exercício tem duplo efeito o do sistema imunitário, representado pela curva em forma de “J” (FIGURA 30), onde as diferentes relações entre intensidade e susceptibilidade a infecções virais está relacionada à eficiência funcional do sistema imunitário. O treinamento de saltos utilizado não diminuiu nenhum dos parâmetros imunitários mensurados. Nos grupos exercitado sem tumor (EX) e exercitado suplementado (EXH) houve aumento em todos os parâmetros imunitários, quando comparados aos do grupo S, o que comprova o efeito imunopromotor das cargas e volumes impostos por esse tipo de treinamento.



FIGURA 30 – Curva em forma de J proveniente da relação entre o nível de atividade física e a resposta imunitária. A prática regular de exercício moderado melhora a função imunitária enquanto o exercício em quantidade excessiva pode causar imunossupressão.

Os mecanismos por trás dos efeitos do exercício sobre o sistema imunitário ainda estão sobre intensa investigação. Duas hipóteses estão em grande debate na literatura: a primeira denominada hipótese metabólica, envolve o metabolismo do aminoácido glutamina e sua importância na função das células imunitárias (CASTELL, 2003; COSTA ROSA, 2004), a segunda hipótese considera mudanças no eixo neuroimunoendócrino (PEDERSEN; TOFT, 2000).

A glutamina é considerada aminoácido condicionalmente essencial, que compreende 20% dos aminoácidos plasmáticos. A musculatura esquelética é a maior fonte de glutamina e pode liberá-la na corrente sanguínea em altas taxas (NEWSHOLME; CALDER, 1997). Foi demonstrado que células com grande capacidade proliferativa ou com alta atividade secretora, como respectivamente, linfócitos e macrófagos, utilizam altas taxas de glutamina mesmo quando em estado quiescente. Quando suprida em concentrações suficientes, a glutamina propicia a proliferação linfocitária, a resposta das células NK a linfocinas e a produção de

citocinas pelas células do sistema imunitário. A demanda de glutamina por diferentes tecidos durante o exercício pode levar a escassez deste substrato para as células do sistema imunitário, o que pode temporariamente afetar sua função (LISSA, 2004; PARRY-BILLINGS et al, 1992). A glutaminemia parece apresentar um efeito bifásico, com o exercício de curta duração (menos que uma hora) a 60-75% VO_2 máx. em aumento da concentração plasmática (HENRIKSSON, 1991), enquanto reduções de até 25% podem ocorrer após uma maratona completa (CASTELL, 2003). Quando as concentrações de glutamina foram mantidas em níveis normais em atletas de triatlon olímpico, utilizando suplementação com aminoácidos de cadeia ramificada, houve aumento paralelo das concentrações de IL-1, IL-2, TNF- α e IFN- γ (BASSIT, et al, 2000), o que muda o balanço da resposta imunitária para a do tipo Th1, a qual é responsável pela imunidade celular (FIGURA 31) (ELENKOV; CHROUSOS, 2002).

A hipótese neuroimunoendócrina está baseada em elevações na concentração de vários hormônios durante o exercício, bem como de algumas citocinas como, por exemplo, a IL-6, a qual pode ter sua concentração aumentada em até 100 vezes durante o exercício intenso. Entre os hormônios estão, adrenalina, noradrenalina, hormônio do crescimento e o cortisol. Estas mudanças são dependentes da intensidade e duração do exercício, e estas variáveis podem modificar o perfil de secreção e degradação desses hormônios (COSTA ROSA, 2004). Lakier Smith (2003) advoga que o exercício até a exaustão modifica a resposta imunitária para o braço Th1, com o concomitante aumento na produção de glicocorticóides. Imediatamente após breve sessão de exercício intenso, em ciclo ergômetro, foram encontrados aumentos significativos nas concentrações séricas de IL-12, a qual é conhecida por estimular resposta imunitária do tipo Th1, responsável pela atividade citotóxica e anti-tumoral (AKIMOTO et al, 2000; LAKIER SMITH, 2003).

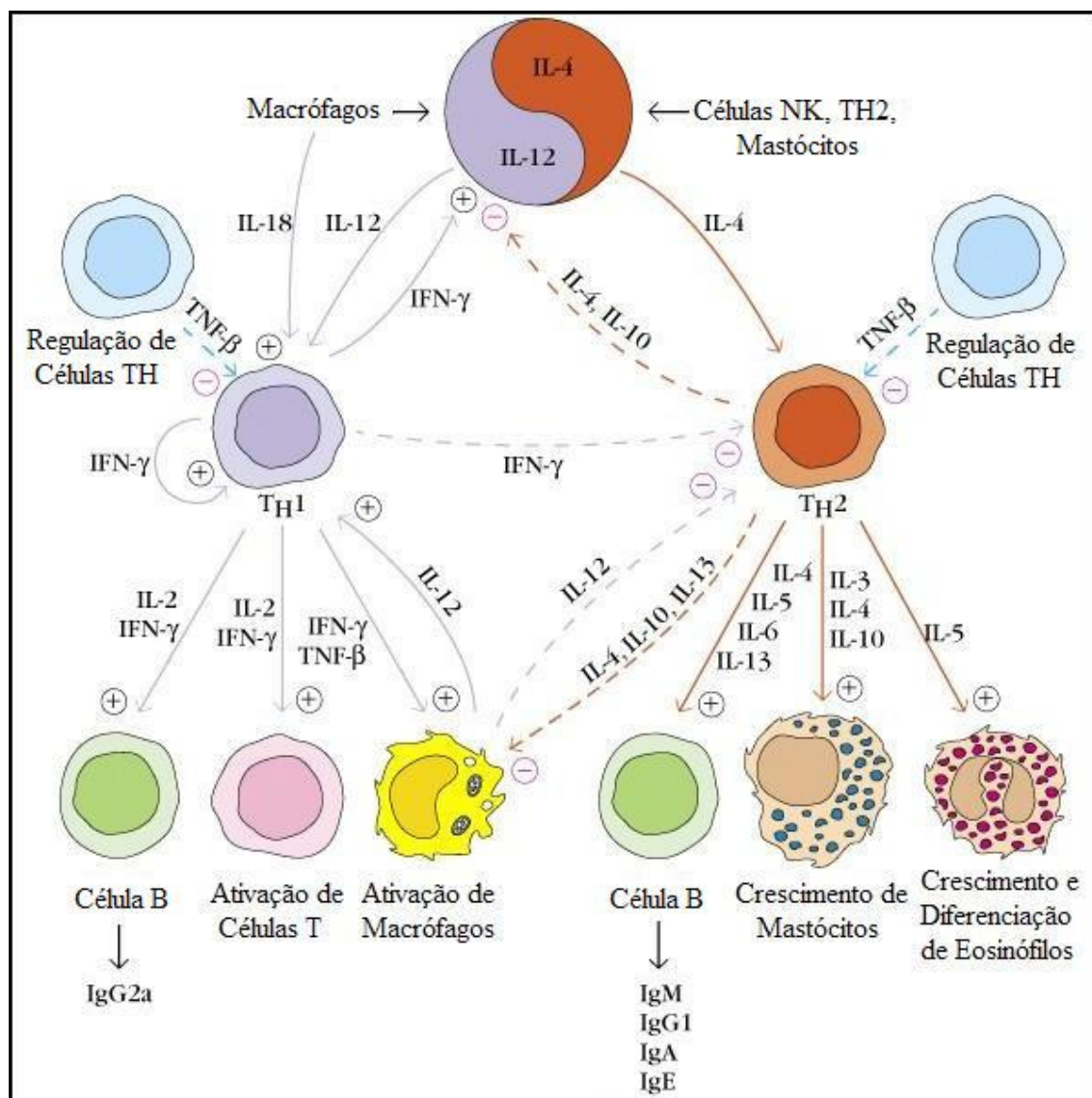


FIGURA 31– Diferenciação das funções efetoras das subpopulações de linfócitos T CD4+ (Th1 e Th2). A resposta do tipo Th1 é responsável pela imunidade celular, desta maneira tem importante função na eliminação de células neoplásicas (ABBAS et al., 2005 modificado).

Um relato interessante neste trabalho foi a manutenção do peso corporal dos indivíduos com tumor e exercitados (QUADRO 1). No grupo EXW a presença do tumor não provocou diminuição do peso carcaça como ocorreu no grupo SW, não praticante de atividade física. De fato, os indivíduos do grupo EXW ganharam 14 g durante os 15 dias da presença do tumor. Isto demonstra que o protocolo de exercício utilizado foi capaz de preservar o peso dos indivíduos com tumor, e em

adição, provocar maior ganho de peso nos indivíduos dos grupos EX e EXH quando comparados ao grupo S. O protocolo de exercício de saltos, em piscina, se caracteriza como exercício resistido, pois este é definido pelo movimento contra algum tipo de resistência. No caso, os indivíduos são obrigados realizar séries de saltos com carga relativa a 50% do peso corporal acoplada ao tronco. O exercício de força vem sendo usado para aumentar a mobilidade do ombro, após cirurgia de câncer de mama (BENDZ; OLSEN, 2002). A utilização do exercício em pacientes sob quimioterapia demonstrou auxiliar na manutenção do balanço energético (HARVIE et al., 2004) e melhorar a qualidade de vida em pacientes sobreviventes de câncer (COURNEYA et al, 2004). O exercício induz a transcrição de genes envolvidos no crescimento, vascularização e metabolismo e estas ações indicam uma gama de mudanças na regulação transcricional, as quais têm papel importante nas respostas de adaptação e mudanças metabólicas musculares (ZAMBON et al., 2003). O exercício de força tem a propriedade de aumentar a captação e o transporte de glicose na musculatura esquelética, estas adaptações são restritas aos músculos recrutados na atividade proferida (YASPELKIS et al. 2002). Como observado nos QUADROS 2 e 3 os grupos exercitados com tumor, EXW e EXHW apresentaram glicemia e estoques de glicogênio muscular e hepático em valores comparáveis ao de um indivíduo sadio, como os do grupo S, enquanto o grupo SW tem os conteúdos de glicogênio e glicemia reduzidos quando em comparação com o controle sedentário (S). Estes dados corroboram as afirmações dos autores citados acima sobre a influência do treinamento sobre o metabolismo de carboidratos.

Leung et al. (2004) demonstraram que o exercício diminuiu em 27% o crescimento do tumor em pacientes com câncer de próstata e esta redução estava relacionada ao aumento da proteína p53 nas células tumorais destes pacientes. Este mesmo tipo de exercício promoveu melhores benefícios em relação à redução dos sintomas da fadiga relacionada ao câncer e de seu tratamento. Um programa de exercícios bem estruturado pode aumentar a saúde relacionada à qualidade de vida em homens com câncer de próstata (SEGAL et al. 2003). O exercício de força pode aumentar a qualidade de vida e reduzir os sintomas de muitas desordens clínicas incluindo obesidade, diabetes tipo II, doenças coronarianas e trauma. O efeito do exercício de força na musculatura esquelética é mediado pela ativação de cascatas de sinalização musculares específicas que aumentam a massa muscular, os níveis de proteínas do citoesqueleto e a força de contração sem aumentos significativos do

número de miofibrilas (BARR; ESSER, 1999). O exercício de força tem a capacidade de melhorar o humor, aumentar a massa muscular e reduzir o percentual de gordura (SIPILA et al., 2001). Entretanto, pouco é conhecido sobre estas adaptações em indivíduos com câncer. Estudos futuros são necessários para se determinar se há benefícios adicionais ao se estender os programas de exercício de força por mais 12 semanas além de se fazer comparações entre protocolos de exercício aeróbio e de força comparando seus benefícios (SEGAL et al., 2003).

O exercício físico é uma das estratégias que pode ser adotada para combater a quebra de proteínas durante doenças crônicas (ZINNA et al., 2003). Contudo, os programas de exercício não estão bem definidos e não estão incluídos na lista de possíveis intervenções para o gerenciamento da caquexia (COSTA ROSA, 2004). O exercício de força, em combinação com a administração do hormônio do crescimento aumentou os níveis de *Mechano Growth Factor* (MGF) e da área de secção transversal de músculos de indivíduos idosos. O MGF parece ser bastante relevante para o entendimento e etiologia do desenvolvimento de possíveis tratamentos a doenças onde existe degradação muscular progressiva incluindo a sarcopenia (HAMEED et al. 2003). O MGF é derivado do IGF-I, mas sua seqüência difere da do IGF-I sistêmico produzido pelo fígado. O MGF é expresso como resposta a sobrecarga mecânica imposta aos músculos e está envolvido no reparo de tecidos e em processos de adaptação. É expresso em um pulso seguindo algum tipo de dano muscular e está envolvido na ativação das células satélites musculares. Estas doam núcleos para as fibras musculares, os quais são requeridos para os processos de hipertrofia e reparo, processos estes que podem possuir mecanismos regulatórios similares. O IGF-I (IGF-IEa) é constitutivamente expresso por muitos tecidos, incluindo a musculatura esquelética. Já o RNAm do MGF não está presente ao menos que o músculo seja exercitado ou lesado. A seqüência do MGF em ratos tem 52 pares de bases inseridas e em humanos 49 bases inseridas no éxon 5, quando comparado com o a seqüência do IGF-I. Esta diferença tem importantes conseqüências funcionais como, por exemplo, um peptídeo carboxi-terminal que está envolvido no reconhecimento por proteínas que estabilizam e direcionam estes fatores de crescimento. Também, no caso do MGF, esta parte do peptídeo age como fator de crescimento, em separado, envolvido na ativação da iniciação de células satélites, em adição ao seu domínio que interage com o receptor de IGF-I, o qual

aumenta a síntese protéica. O MGF é expresso antes que o IGF-IEa em resposta ao exercício na musculatura esquelética (HILL; GODSPINK, 2003).

O estabelecimento da caquexia é detectado pela presença de hipoglicemia, hiperlaticidemia, hipertriacilgliceridemia, redução do conteúdo de glicogênio, perda de peso (PINTO et al, 2004). Todos estes sintomas foram encontrados nos ratos com tumor não submetidos a treinamento e/ou suplementação (QUADROS 2 e 3). Os grupos que praticaram atividade física ou submetidos a suplementação com HMB tiveram todos esses parâmetros modificados, quando comparados aos do grupo sedentário ou melhorados quando em comparação a este mesmo grupo (QUADROS 2 e 3). Estudos epidemiológicos longitudinais têm demonstrado que existe correlação direta entre os níveis de colesterol plasmático, triacilgliceróis e o aumento de doenças cardiovasculares. Essa correlação depende, particularmente, da concentração das lipoproteínas (notadamente LDL e HDL) que transportam o colesterol na corrente sangüínea. Desta maneira, concentrações de colesterol LDL aumentadas e de HDL diminuídas não são consideradas bom prognóstico (SCHULTE; CULLEN; ASSMANN, 1999). Os mecanismos pelos quais as diversas lipoproteínas se relacionam com as doenças cardiovasculares são complexos, envolvendo a formação de células espumosas, resposta inflamatória, alterações plaquetárias, alterações do endotélio e formação de placas ateroscleróticas. Entre os fatores de risco envolvidos neste processo têm-se as dislipidemias, o diabetes, a hipertensão arterial e o tabagismo. As dislipidemias podem ser classificadas, do ponto de vista laboratorial, em hipercolesterolemia isolada (aumento do colesterol total e/ou da fração LDL-colesterol), hipertriacilgliceridemia isolada, hiperlipidemia mista (aumento do colesterol total e dos triacilgliceróis) e diminuição isolada do HDL-colesterol ou associada ao aumento dos triacilgliceróis ou LDL-colesterol (CASTRO et al., 2004).

O exercício pode elevar as concentrações de colesterol HDL com ou sem a perda de gordura (THOMPSON et al, 1997). O exercício de força, na forma de um programa de 14 semanas utilizando cargas a 85% de 1 repetição máxima (RM), tem a propriedade de diminuir o colesterol LDL e os triacilgliceróis plasmáticos (PRABHAKARAM et al., 1999). Programas utilizando exercício de força com resistência imposta por elásticos (dynaband) por período de 16 semanas demonstraram ser capazes de aumentar o colesterol HDL em humanos. (BEMBEN et al. 2000). No entanto, o exercício de força realizado durante 8 semanas, por

mulheres pós entrada na menopausa, não causou mudanças no perfil lipídico (ELLIOTT et al., 2002). O treinamento utilizado foi eficaz em aumentar as concentrações de colesterol HDL nos indivíduos do grupo EX e EXH (FIGURA 17), fator este relacionado a bom prognóstico e melhora nos parâmetros relacionados à saúde e prevenção do aparecimento de doenças crônico-não-transmissíveis (CASTRO et al. 2004).

A molécula de HMB é bastante semelhante à molécula do ácido graxo de cadeia curta, o butirato. Estes dois compostos diferem apenas pela presença de uma hidroxila, radical OH, e um radical CH₃ presentes no carbono β na molécula de HMB (FIGURA 32). Desta maneira, pode-se levantar a hipótese que tanto o HMB quanto o butirato possam compartilhar alguns efeitos biológicos.

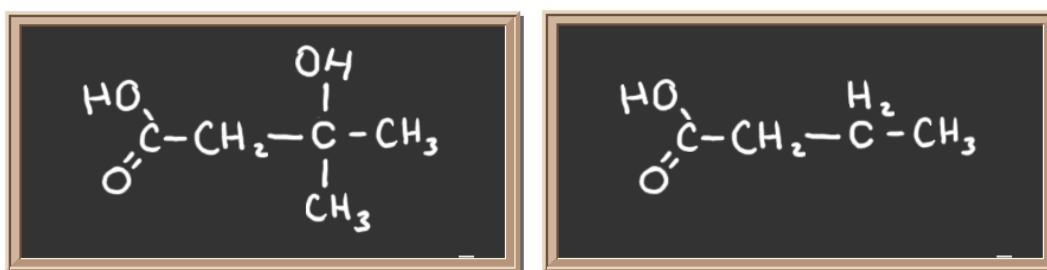


FIGURA 32 – Representação das fórmulas estruturais planas das moléculas de HMB (esquerda) e butirato (direita).

O butirato induz a efeito anti-proliferativo e anti-diferenciação em várias linhagens celulares de carcinoma de cólon, bem como em vários tipos de células neoplásicas, em concentrações fisiológicas. A atividade anti-crescimento e protetora contra câncer de cólon acontece via impedimentos da diferenciação, parada do ciclo celular e indução de apoptose em colonócitos transformados (HASSIG; TONG; SCHREIBER, 1997). A suplementação com HMB foi eficaz na diminuição do crescimento tumoral nos indivíduos do grupo SHW (FIGURA 7). Levantamos a possibilidade do HMB ter efeito direto sobre células do tumor de Walker 256 diminuindo assim sua proliferação e/ ou aumentando a apoptose, mecanismos estes que ainda devem ser testados. O grupo EXHW também apresentou diminuição do crescimento tumoral, porém a determinação do fator responsável por esta redução não foi possível, pois tanto a variável exercício quanto a suplementação isolados, se mostraram eficazes em diminuir o crescimento tumoral, contudo sem efeito aditivo

quando aplicadas em conjunto no grupo EXHW. A possível explicação é que talvez compartilhem a mesma via e dessa forma o mesmo mecanismo de ação. Esta hipótese deve ser testada.

É sabido que o butirato inibe o aumento da expressão ciclooxigenase-2 (COX-2) induzida por citocinas, e esta habilidade pode estar relacionada à inibição de histona deacetilases (TONG; YIN; GIARDINA, 2004). Altas concentrações da enzima COX-2, assim como aumento de sua atividade, estão relacionadas a processos neoplásicos. A utilização de inibidores da COX-2 têm sido demonstrado inibir o crescimento tumoral (PIFFAR et al., 2003; PINTO et al. 2004). As histonas deacetilases determinam o padrão de acetilação das histonas, proteínas envolvidas na compactação do DNA, o que junto com outras mudanças dinâmicas pós-traducionais podem representar um “código” que pode ser reconhecido por outras proteínas que formam complexos e estão envolvidas na regulação da expressão gênica (MARKS; MILLER; RICHON, 2003). As histonas deacetilases regulam a transcrição por deacetilação de histonas ou deacetilação de elementos regulatórios de genes específicos. A inibição causada pelo butirato leva a hiperacetilação de histonas centrais, em específico as do tipo H3 e H4. A inibição do butirato sobre as histonas deacetilases, resultam em mudanças na transcrição de genes específicos, incluindo o inibidor de ciclina dependente de quinase (CdK) p21/Cip1/WAF1. Deacetilações direcionadas ou não dos promotores do gene da p21 por histona deacetilases, podem ser importantes para a repressão da transcrição do mRNA da p21. A proteína YY1 é inibidora da expressão da p21, que age por mecanismo de recrutamento de histona deacetilases, para um proposto sítio de ligação da YY1 no promotor do gene da proteína p21. O butirato pode diminuir a repressão sobre a p21 inibindo a deacetilação direcionada pela YY1. (HASSIG; TONG; SCHREIBER, 1997). A p21 tem a capacidade de inibir as CdKs do tipo 2, 3,4 e 6 (HARPER et al.,1993). Ao nível de expressão da proteína Bcl-2, envolvida na regulação da apoptose em mamíferos, pode ser um agente de inibição ou diferenciação pra muitas linhagens de células tumorais, incluindo cânceres de mama (MANDAL; KUMAR, 1996). Ainda não foi demonstrado se o HMB possui efeito inibidor sobre histona deacetilases, portanto investigações futuras devem ser feitas para averiguar esta hipótese.

Os receptores acoplados a proteína G (GPCRs) são vastamente pesquisados como alvos de drogas para intervenções terapêuticas, em que mais de 30% das

drogas do mercado modulando membros específicos desta família. (BROWN; JUPE; BRISCOE, 2005). Numerosos GPCRs, cujos ligantes são desconhecidos são chamados de receptores órfãos. Tem havido muitas pesquisas na tentativa de identificação de ligantes endógenos e na elucidação dos papéis fisiológicos destes receptores órfãos. Segundo as últimas estimativas existem mais ou menos 360 receptores com papel quimiosensor (basicamente gustatórios e olfativos) e 360 com papel não quimiosensor em humanos (WISE et al., 2004). Ligantes fisiológicos são conhecidos para 210 dos receptores não quimiosensórios, restando 150 receptores órfãos. A análise filogenética de um grupo de receptores ligados a proteína G, a família GPR40, revelou relação próxima com o braço da Classe A, evolutivamente mais recente na superfamília dos GPCRs. Estes receptores estão relacionados a nucleotídeos, eicosanóides, ativadores de proteases e lipídeos (VASSILATIS et al., 2003). Pesquisas recentes têm identificado os ácidos carboxílicos de cadeia curta (ex: acetato, propionato e butirato) como agonistas dos receptores da família GPR40s. Esses ácidos carboxílicos podem ativar os receptores dentro de concentrações fisiológicas, o que pode caracterizá-los como ligantes endógenos (BROWN et al., 2003; LE POUL et al., 2003). Existe homologia significativa entre a família GPR40 e a família dos receptores para leucotriênos, em adição os leucotriênos (ex: BLT1, BLT2, CysLT1, CysLT2) possuem um *moiety* de ácido carboxílico em sua molécula, isto pode refletir um modo similar de ligação ao receptor (BROWN et al., 2003).

Em particular, os receptores GPR41 e GPR43 são ativados por formato, acetato, propionato, butirato, pentanoato e hexanoato. No entanto, existem diferenças no grau de ativação do receptor conforme o tipo de ligante. Para o GPR41 existe a seguinte ordem no grau de ativação: propionato = pentanoato = butirato > acetato > formato. O GPR43 tem sua ativação diferentemente conforme a seguinte seqüência: acetato = propionato = butirato > pentanoato > hexanoato = formato. GPR43 aparentemente está ligado a proteína G_{αq} e causa elevação do Ca²⁺ em células HEK293 e COS-7. O GPR43 pode ativar G_{αi} e G_{αq} enquanto o GPR41 parece ser seletivo para G_{αi} (BROWN et al., 2003). O GPR41 demonstrou ter a capacidade de ativar a p53 em células H9c2 (tipo de célula embrionária cardíaca de rato), levando a apoptose durante a reoxigenação após hipóxia isquêmica. A proteína p53 pode elevar a concentração da proteína pró-apoptótica Bax assim como de seu RNAm (KIMURA et al., 2001). Lê Poul et al. (2003)

demonstraram que o butirato promove ativação de células PMN, mecanismo que possui o envolvimento do aumento do Ca^{2+} intracelular. Em adição, Senga; Iwamoto (2003) demonstraram que existe o envolvimento do GPR43 na função de leucócitos e defesa do hospedeiro. Esta afirmação está sustentada pela indução do RNAm do GPR43 durante a ativação e diferenciação de monócitos e células PMN. O HMB, por apresentar similaridade ao butirato, pode apresentar a capacidade de interagir com algum destes receptores da família GPR40, hipótese, que se comprovada, poderia explicar o efeito do HMB sobre a atividade de células do sistema imunitário *in vitro* e *in vivo*.

Pesquisa em animais mostraram que em situações de estresse severo para moderado, a suplementação com HMB combate muitos dos efeitos negativos e pode melhorar a saúde do animal (GATNAU et al., 1995; SIWICK et al., 2004). Estudo *in vitro* investigando a influência do HMB em macrófagos e linfócitos obtidos de truta arco-íris demonstrou haver aumento na atividade destas células (SIWICKI et al., 2000). Em estudos *in vivo* com HMB, também sobre os macrófagos e linfócitos obtidos de truta arco-íris, foi demonstrado haver aumento da função destas células, melhorando a habilidade do organismo em lutar contra doenças e resistir a infecções (NISSEN et al., 1996; SIWICKI et al., 2000; SIWICKI et al., 2003). O HMB aumentou a capacidade proliferativa de linfócitos T e B, estimulados com ConA e LPS respectivamente, obtidos de peixe *silurus glanis* (SIWICKI et al., 2004). Outros trabalhos *in vitro* com macrófagos de galinhas, sugerem que o HMB aumente a atividade fagocítica e a produção de óxido nítrico destas células (PETERSON et al., 1999). Está bem evidenciado que a suplementação com HMB (QUADROS 4 e 5), na dose de 76 mg/kg/dia, tem efeito imunoestimulador. Afirmação esta representada fato este representado pelo aumento nos parâmetros relacionados às capacidades citotóxicas dos macrófagos peritoneais e PMN. O aumento da atividade citotóxica das células imunitárias, aliado a possível ação direta do HMB sobre as células do Tumor de Walker 256, podem constituir o mecanismo responsável pela menor taxa de crescimento tumoral e o não estabelecimento dos distúrbios da caquexia nos indivíduos suplementados.

Uma estratégia com grande potencial, sobre a caquexia é a utilização de suplementação nutricional direcionada para a estimulação da síntese protéica (FLAKOLL et al., 2004) ou redução da quebra de proteínas. Alguns estudos têm implementado estratégias para minimizar a perda muscular relacionada à AIDS e

caquexia, através da suplementação com aminoácidos (arginina e glutamina) para aumentar a síntese protéica e HMB para diminuir a taxa de degradação protéica (CLARK et al, 2000; EUBANKS et al., 2002). A suplementação diária com HMB, ARG e LYS por 12 semanas, alterou positivamente alguns parâmetros de funcionalidade, força, massa magra e síntese protéica, sugerindo que a estratégia de nutrição direcionada tem a habilidade de afetar a saúde muscular em mulheres na 3ª idade, as quais podem apresentar 1,5% de perda de massa magra por ano por razões multifatoriais (FLAKOLL et al, 2004). O HMB pode prevenir a excessiva proteólise durante o estresse metabólico e recentemente tem sido demonstrado aumentar o ganho de massa muscular em homens e mulheres idosos que fazem exercício físico (VUKOVICH; STULOBS; BOHLKEN, 2001). Resultados de Smith et al., 2005 sugerem que o HMB preserva a massa magra e atenua a degradação protéica por mecanismo de diminuição da expressão de alguns componentes do sistema ubiquitina-proteossoma e talvez pela estimulação da síntese protéica. Mas, especificamente, existe a diminuição da expressão das subunidades α e β da porção 20S e da proteína p42 da porção 19S. A proteína quinase C alfa (PKC α) parece ter participação importante no processo de indução da expressão do proteossoma pelo PIF (SMITH et al., 2004a). Esta expressão foi bloqueada com a utilização de inibidores de PKC e em miotubulos transfectados com um gene dominante negativo para PKC α , os quais não demonstraram da PKC α (SMITH et al 2004a). O PIF induz a diminuição do I κ B α citosólico e aumento da ligação do NF κ B, seu receptor nuclear, e este efeito foi atenuado por inibidores de PKC. Isto sugere que a PKC está envolvida na fosforilação e degradação o I κ B α , induzida pelo PIF, necessário para liberação do NF κ B do seu complexo citosólico inativo (SMITH et al, 2004b). O HMB demonstrou ter a habilidade de bloquear a ativação da PKC induzida pelo PIF, o que poderia explicar a inibição da expressão do sistema ubiquitina proteossoma e o subsequente aumento na degradação protéica (SMITH et al, 2004a; SMITH et al, 2005). A ação direta do HMB sobre o metabolismo protéico muscular pode ter auxiliado na manutenção do peso da carcaça dos indivíduos suplementados (QUADRO 1).

Todos os efeitos observados com o tipo de exercício utilizado assim como o protocolo de suplementação devem ser testados em diferentes modelos animais para averiguar a existência de uma homogeneidade de respostas. Esta colocação

está baseada na vasta gama de tumores existentes assim como na divergência das respostas hospedeiro x tumor.

7- CONCLUSÃO

O treinamento de saltos em meio aquático foi eficaz em retardar a taxa de crescimento tumoral e atenuar a instalação da síndrome da caquexia em indivíduos portadores do tumor de Walker 256. Em indivíduos não portadores de tumor, a prática de exercício demonstrou ser capaz de aumentar as capacidades fagocíticas e citotóxicas de macrófagos peritoneais e PMN, além das adaptações concomitantes no metabolismo energético, expresso pelo aumento dos estoques de glicogênio muscular e hepático.

A suplementação com HMB, na dose de 76 mg/kg/dia durante 8 semanas, também retardou o crescimento tumoral e atenuou o aparecimento dos sintomas da caquexia. Em adição, a suplementação isoladamente, aumentou a atividade de macrófagos e PMN.

Os resultados demonstram que a prática de exercício associada a suplementação com HMB, ou não, podem servir de auxílio no tratamento de indivíduos portadores de tumor, pois modificam a funcionalidade do sistema imunitário ou ter ações diretas em vias de sinalização dentro nas células tumorais, mecanismos estes que podem estar envolvidos na inibição do desenvolvimento tumoral.

8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H. **Imunologia Celular e Molecular**. 5ª Ed.(traduzida)-Rio de Janeiro –RJ, Elsevier, 580p, 2005.

AKIMOTO, T.; AKAMA, T.; TATSUNO, M.; SAITO, M.; KONO, I. Effect of brief maximal exercise on circulating levels of interleukin-12. **Eur J Appl Physiol**. 81(6):510-2, 2000.

ALBERTS, B.; BRAY, D.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Fundamentos de biologia celular: uma introdução à biologia molecular da célula**. Artmed, Porto Alegre, 1999.

ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J.D. **Biologia molecular da célula**. 3ªed., Artmed, Porto Alegre, 1997.

AL-MAJID, S.; McCARTHY, D.O. Cancer-induced fatigue and skeletal muscle wasting: The role of exercise. **Biolog. Res. Nurs**. 2(3): 186-197, 2001a.

AL-MAJID, S.; McCARTHY, D.O. Resistance exercise attenuates wasting of the Extensor Digitorum Longus Muscle in mice bearing the Colon-26 Adenocarcinoma. **Biolog. Res. Nurs**. 2(3):155-166, 2001b.

ANTHONY, J.C.; ANTHONY, T.G.; KIMBALL, S.R.; JEFFERSON, L.S. Signaling Pathways Involved in Translational Control of Protein Synthesis in Skeletal Muscle by Leucine **J. Nutr**. 131: 856S–860S, 2001.

ANTHONY, J.C.; GAUTSCH, T.A.; KIMBALL, S.R.; VARY, T.C.; JEFFERSON, L.S. Orally administered leucine stimulates protein synthesis in skeletal muscle of post absorptive rats in association with increased eIF4F formation. **J. Nutr**. 130: 139-145, 2000.

ANTHONY, J.C.; LANG, H.C.; CROZIER, S.J.; ANTHONY, T.G.; MacLEAN, D.A.; KIMBALL, S.R. JEFFERSON, L.S. Contribution of insulin to the translational control of

protein synthesis in skeletal muscle by leucine. **Am. J. Physiol. Endocrinol Metab.** 282: E1092-E1101, 2002.

ARGILÉS, J.M.; ALVAREZ, B.; LOPES-SORIANO, F.J. The metabolism basis of cancer cachexia. **Med. Res. Rev.** 17(5):477-98, 1997.

ARGILÉS, J.M.; COSTELLI, P.; CARBO, N.; PALLERES-TRUJILLO, J.; LOPES-SORIANO, F.J. Tumor growth and nitrogen metabolism in host. **Inst. J. Oncol.** 14(3):479-86, 1999.

ARGILÉS, J.M.; LOPEZ-SORIANO, F.J. The role of cytokines in cancer cachexia. **Med. Res. Rev.** 19:223-248, 1999.

ARONSON, D.; BOPPART, M.D.; DUFRESNE, S.D.; FIELDING, R.A.; GOODYEAR, L.J. Exercise stimulates c-Jun NH2 kinase activity and c-Jun transcriptional activity in human skeletal muscle. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 251:106-110, 1998.

BAAR K, ESSER K. Phosphorylation of p70(S6k) correlates with increased skeletal muscle mass following resistance exercise. **Am J Physiol.** 276(1 Pt 1):C120-7. 1999.

BAAR, K.; ESSER, K.; Phosphorylation of p70(S6k) correlates with increased skeletal muscle mass following resistance exercise. **Am. J. Physiol.** 276(1 Pt 1):C120-C127, 1999.

BACURAU, R.F.P.; BELMONTE, M.A.; SEELAENDER, M.C.L.; COSTA ROSA L.F.B.P. Effect of a moderate intensity exercise training protocol on the metabolism of macrophages and lymphocytes of tumor-bearing rats. **Cell Biochem. Funct.** 18:249-258, 2000.

BARACOS, V.E. Exercise inhibits progressive growth of the Morris hepatoma 7777 in male and female rats. **Can. J. Physiol. Pharmacol.** 67:864-870, 1989.

BARACOS, V.E. Management of muscle wasting in cancer-associated cachexia. **Cancer.** 92:1669-1677, 2001.

BARBER, M.D.; ROSS, J.A.; FEARON, K.C.H. Cancer cachexia. **Surg. Oncol.** 8:133-141, 1999.

BASSIT, R.A.; SAWADA, L.A.; BACURAU, R.F.; NAVARRO, F.; MARTINS, E. Jr.; COSTA ROSA, L.F.B.P. The effect of BCAA supplementation upon the immune response of triathletes. **Med Sci Sports Med.** 32:1214-9, 2000.

BEMBEN, D.A.; FETTERS, N.L.; BEMBEN, M.G.; NABAVI, N.; KOH, E.T. Musculoskeletal responses to high- and low-intensity resistance training in early postmenopausal women. **Med Sci Sports Exerc.** 32(11):1949-57, 2000.

BENDZ, I.; FAGEVIK OLSEN, M. Evaluation of immediate versus delayed shoulder exercises after breast cancer surgery including lymph node dissection--a randomized controlled trial. **Breast.** 11(3):241-8, 2002.

BIOLO, G.; TESSARI, P.; INSHIOSTRO, S.; BRUTTOMESSO, C.; FONGHER, C.; SABADIN, L.; FRATTON, M.G.; VALERIO, A.; TIENGO, A. Leucine and phenylalanine kinetics during mixed meal ingestion. A multiple tracer approach. **Am. J. Physiol.** 262: E455-E463, 1992.

BONATTO, S. J. R.; FOLADOR, A.; AIKAWA, J.; et al. Lifelong exposure to dietary fish oil alters macrophage responses in Walker 256 tumor-bearing rats (NO PRELO). **Cellular Immunology**, San Diego-USA, 2005.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem.** 72:248-254, 1976.

BRIGATI, C.; NOONAN, D.M.; ALBINI, A.; BENELLI, R. Tumors and inflammatory infiltrates: friends or foes? **Clin Exp Metastasis.**;19(3):247-58, 2002 (Abstract).

BROOKE, M.H.,KAISER, K.K. Three "myosin ATPase" systems: the nature of their pH lability and sulphhydryl dependence. **J. Histochem. Cytochem.** 18:670-672, 1970.

BROWN, A.J.; GOLDSWORTHY, S.M.; BARNES, A.A.; EILERT, M.M.; TCHEANG, L.; DANIELS, D.; MUIR, A.I.; WIGGLESWORTH, M.J.; KINGHORN, I.; FRASER, N.J.; PIKE, N.B.; STRUM, J.C.; STEPLEWSKI, K.M.; MURDOCK, P.R.; HOLDER, J.C.; MARSHALL, F.H.; SZEKERES, P.G.; WILSON, S.; IGNAR, D.M.; FOORD, S.M.; WISE, A.; DOWELL, S.J. The Orphan G protein-coupled receptors GPR41 and GPR43 are activated by propionate and other short chain carboxylic acids. **J Biol Chem. Mar** 28;278(13):11312-9, 2003.

BROWN, A.J.; JUPE, S.; BRISCOE, C.P. A family of fatty acid binding receptors. **DNA Cell Biol.** 24(1):54-61, 2005.

BRUERA, E. Anorexia, cachexia and nutrition. **Br. Med. J.** 315:1219-1222, 1997.

BURNHAM, T.R.; WILCOX, A. Effects of exercise on physiological and psychological variables in cancer survivors. **Med. Sci. Sports Exerc.** 34:1863-1867, 2002.

CALDER, P.C. N-3 Polyunsaturated fatty acids and mononuclear phagocyte function. **Medicinal Fatty Acids in Inflammation.** Edited by J. Kremer, 1998.

CALDER, P.C. The effect of dietary fatty acids on the immune response and susceptibility to infection. **Nutrition, Immunity and Infection in Infants and Children. 45:** 137-172, 2001.

CANDIDO, E.P.; REEVES, R.; DAVIE, J.R. Sodium butyrate inhibits histone deacetylation in cultured cells. **Cell.** 14:105-113, 1978.

CARSON, J.A.; WEI, L. Integrin signaling's potential for mediating gene expression in hypertrophying skeletal muscle. **J.Appl. Physiol.** 88:337-343, 2000.

CASTELL, L. Glutamine supplementation in vitro and in vivo, in exercise and immunodepression. **Sports Med,** 33:323-45, 2003.

CASTELL, L. Glutamine supplementation in vitro and in vivo, in exercise and immunodepression. **Sports Med.** 33:323-45, 2003.

CASTRO, L.C.V.; FRANCESCHINI, S.C.C.; PRIORE, S.E.; PELÚZIO, M.C.G. Nutrition and cardiovascular diseases: the risk markers in adults. **Rev. Nutr., Campinas.** 17(3):369-377, 2004.

CHAKRAVORTTY, D.; KOIDE, N.; KATO, Y. et al. The inhibitory action of butyrate on lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in RAW 264,7 murine macrophage cells. **J. Endotoxin Res.** 6:243-247, 2000.

CHANCE, W.T.; BALASUBRAMANIAM, A.; DAYAL, R.; BROWN, J.; FISHER, J.E. Hypothalamic concentration and release of neuropeptide Y into microdialysates is reduced in anorectic tumor-bearing rats. **Life Sci.** 54(24):1869-74, 1994.

CHANCE, W.T.; BALASUBRAMANIAM, A.; THOMPSON, H.; MOHAPATRA, B.; RAMO, J.; FISCHER, J.E. Assessment of feeding response of tumor-bearing rats to hypothalamic injection and infusion of neuropeptide Y. **Peptides.** 17(5):797-801, 1996.

CHANCE, W.T.; BALASUBRAMANIAM, A; BORCHERO, M.; FISCHER, J.E. Refractory hypothalamic adenylate cyclase in anorectic tumor bearing rats. Implications for NPY-induced feeding. **Brain Res.** 11;691(1-2):180-4,1995

CHULADA PC, THOMPSON MB, MAHLER JF, DOYLE CM, GAUL BW, LEE C, TIANO HF, MORHAM SG, AMITHIES O, LANGENBACH R. Genetic disruption of Ptgs-1 as well as Ptgs-2, reduces intestinal tumorigenesis in Min mice. **Cancer Res;**60:4705–8, 2000.

CLARK RH, FELEKE G, DIN M, YASMIN T, SINGH G, KHAN FA, RATHMACHER JA. Nutritional treatment for acquired immunodeficiency virus-associated wasting using beta-hydroxy beta-methylbutyrate, glutamine, and arginine: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. **J Parenter Enteral Nutr.** 24(3):133-9, 2000.

CLARK, E.A.; BRUGGE, J.S. Integrins and signal transduction pathways: the road taken. **Science**. 268-233-239, 1995.

COLBERT, L.H.; DAVIS, J.M.; ESSIG, D.A.; GHAFFAR, A.; MAYER, E.P. Tissue expression and plasma concentrations of TNF α , IL-1 β and IL-6 following treadmill exercise in mice. **Int. J. Sports. Med.** 22:261-267, 2001.

COMPTON, S.J.; JONES, C.G. Mechanism of dye response and interference in the Bradford protein assay. **Anal Biochem**. 151:369-374, 1985.

CONN, V.S.; MINOR, M.A.; BURKS, K.J.; RANTZ, M.J.; POMEROY S.H. Integrative review of physical activity intervention research with aging adults. **Am J. Geriatr Soc.** 51:1159-68, 2003.

COSTA ROSA, L.F.B.P. Exercise as a Time-conditioning Effector in Chronic Disease: a Complementary Treatment Strategy. **eCAM**. 1(1)63-70, 2004.

COSTELLI, P.; TESSITORE, L.; BATETTA, B.; MULAS, M.F.; SPANO, O.; PANI, P.; BACCINO, F.M.; DESSI, S. Alterations of lipid and cholesterol metabolism in cachectic tumor-bearing rats are prevented by insulin. **J. Nutr.** 129:700-706, 1999.

COURNEYA, K.S.; FRIEDENREICH, C.M. Physical exercise and quality of life following cancer diagnosis: a literature review. **Ann. Behav. Med.** 21:171-9, 1999.

COURNEYA, K.S.; SEGAL, R.J.; REID, R.D.; JONES, L.W.; MALONE, S.C.; VENNEN, P.M.; PARLIAMENT, M.B.; SCOTT, C.G.; QUINNEY, H.A.; WELLS, G.A. Three independent factors predicted adherence in a randomized controlled trial of resistance exercise training among prostate cancer survivors. **J Clin Epidemiol.** 57(6):571-9, 2004.

CROWE, M.J.; O'CONNOR, D.M.; LUKINS, J.E. The effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) and HMB/creatine supplementation on indices of health in highly trained athletes. **Int J Sport Nutr Exerc Metab.** Jun;13(2):184-97, 2003.

CULLEN, P.; SCHULTE, H.; ASSMANN, G Smoking, lipoproteins and coronary heart disease risk. Data from the Munster Heart Study (PROCAM). **Eur Heart J.** 19(11):1632-41, 1998.

CURI, T.C.P.; MELO, M.P.; PALANCH, A.C.; MIYASAKA, C.K.; CURI, R. Percentage of phagocytosis, production of O_2^- , H_2O_2 and NO, and antioxidant enzyme activities of rats neutrophils in culture. **Cell Biochem. Funct.** 16:43-49, 1998.

DE FEO; HORBER, P.F.F.; HAYMOND, M.W. Meal stimulate albumin synthesis: a significant contributor to whole body protein synthesis in humans. **Am. J. Physiol.** 263: E794-799, 1992.

DE WYS, W.D.; WALKERS, K. Abnormalities of taste sensation in cancer patients. **Cancer** 36:1888, 1975.

DIMEO, F.C.; RUMBERGER, B.G.; KEUL, J. Aerobic exercise as a therapy for cancer fatigue. **Med Sci. Sports Exerc.** 30: 475-477, 1998.

DIMEO, F.C.; TILMANN, M.H.M.; BERTZ, H.; KANZ, L.; MERTELSMANN, R.; KEUL, J. Aerobic exercise in the rehabilitation of cancer patients after high dose chemotherapy and autologous peripheral stem cell transplantation. **Cancer.** 79:1717-1722, 1997.

DUNLOP, R.J.; CAMPBELL, C.W. Cytokines and advanced cancer. **J. Pain Symptom Manage.** 20:214-232, 2000.

DURAK, E.P.; LILLY, P.C. The application of an exercise and wellness program for cancer patients: a preliminary outcomes report. **J. Strength Condit. Res.** 12:3-6, 1998.

DWORZAK, F.; FERRARI, P.; GAVAZZI, C.; MAIORANA, C.; BOZZETTI, F. Effects of cachexia due to cancer on whole body and skeletal muscle protein turnover. **Cancer.** 82:42-48, 1998.

EDEN, E.; EDSTROM, S.; BENNEGARD, K.; SCHERSTEN, T.; LUNDHOLM, K. Glucose flux in relation to energy expenditure in malnourished in patients with and without cancer during periods of fasting and feeding. **Cancer Res.** 44:1718-1724, 1984.

ELENKOV, I.J.; CHROUSOS, G.P. Stress hormones, proinflammatory and antiinflammatory cytokines, and autoimmunity. **Ann N Y Acad Sci.** 966:290-303, 2002.

ELENKOV, IJ; CHROUSOS, G.P. Stress hormones, proinflammatory and anti-inflammatory cytokines, and autoimmunity. **Ann NY Acad Sci**, 966:290-303, 2002.

ELLIOTT, K. J.; SALE, C.; CABLE, N. T. Effects of resistance training and detraining on muscle strength and blood lipid profiles in postmenopausal women **Br. J. Sports Med.** 36(5): 340-44, 2002.

EUBANK, W.B.; MANKOFF, D.A.; VESSELLE, H.J.; EARY, J.F.; SCHUBERT, E.K.; DUNNWARD, L.K.; LINDSLEY, S.K.; GRALOW, J.R.; AUSTIN-SEYMOUR, M.M.; ELLIS, G.K.; LIVINGSTON, R.B. Detection of locoregional and distant recurrences in breast cancer patients by using FDG PET. **Radiographics.** 22(1):5-17, 2002.

EVANS, W.J.; ROUBENOFF, R.; SHEVITZ, A. Exercise and the treatment of wasting: aging and human immunodeficiency virus infection. **Semin. Oncol.** 25(suppl 6):112-122, 1998.

EVANS, W.K.; MAKUCH, R.; CLAMON. G.H.; FELD, R.; WEINER, R.S.; MORAN, E.; BLUM, R.; SHEPHERD, F.A.; JEEJEEBHOY, K.N.; DE WYS, W.D. Limited impact of total paraenteral nutrition on nutritional status during treatment for small cell lung cancer. **Cancer Res.** 45:3347-3353, 1985.

FARRELL, P.A., FEDELE, M.J.; VARY, T.C.; KIMBALL, S.R.; LANG, C.H.; JEFFERSON, L.S. Regulation of protein synthesis after acute resistance exercise in diabetic rats. **Am J. Physiol. Endocrinol. Metab.** 276:E721-E727, 1999.

FARRELL, P.A.; HERNANDEZ, J.M.; FEDELE, M.J.; VARY, T.C.; KIMBALL, S.R.; JEFFERSON, L.S. Eukaryotic initiation factors and protein synthesis after resistance exercise in rats. **J. Appl. Physiol.** 88:1036-1042, 2000.

FAURSCHOU, M.; BORREGAARD, N. Neutrophil granules and vesicles in inflammation. **Microbes and Infection**, 5:1317-1327, 2003.

FERNANDES, L.C. Alterações metabólicas causadas pelo tumor de Walker 256 no músculo esquelético, linfócitos e macrófagos de ratos. **Tese de Doutorado**, USP, São Paulo, 1995.

FERNANDES, L.C.; CARPINELLI, A.K.; HELL, N.S.; CURI, R. Improvement of cancer cachexia and inhibition of tumor growth by insulin administration in rats. **Cancer Ther. Control.** 1:259-268, 1991.

FERNANDES, L.C.; MACHADO, U.F.; NOGUEIRA, C.R.; CARPINELLI, A.R.; CURI, R. Insulin secretion in Walker 256 tumor cachexia. **Am. J. Physiol.** 258(6Pt1):E1033-1036, 1990.

FERRANDEZ, M.D.; LA FUENTE, M. Effects of age, sex and physical exercise on the phagocytic process of murine peritoneal macrophages. **Acta Physiol. Scan.** 16:47-53, 1999.

FERRANDO, A.A.; TIPTON, K.D.; BAMMAN, N.M.; WOLFE, R.R. Resistance exercise maintains skeletal muscle protein synthesis during bed rest. **J. Appl. Physiol.** 82:807-810, 1997.

FLAKOLL, P.; SHARP, R.; BAIER, S.; LEVENHAGEN, D.; CARR, C.; NISSEN, S. Effect of β -hydroxy- β -Methylbutyrate, Arginine, and Lysine Supplementation on

Strength, Functionality, Body Composition, and Protein Metabolism in Elderly Women. **Nutrition**. 20:445-451, 2004.

FLUCK, M.; CARSON, J.A.; GORDAN, S.E.; ZIEMIECKI, A.; BOOTH, F.W. Focal adhesion proteins FAK and paxillin increase in hypertrophied skeletal muscle. **Am. J. Physiol. Cell Physiol.** 277:C152-C162, 1999.

FLUCKEY, J.D.; ASP, S.; ENEVOLDSEN, L.H.; GALBO, H. Insulin action on rates of muscle protein synthesis following eccentric, muscle-damaging contractions. **Acta Physiol Scand.** 173:379-384, 2001.

FRIEDENREICH, C.M.; COURNEYA, K.S. Exercise as rehabilitation for cancer patients. **Clin. J. Sport Med.** 6:237-244, 1996.

GATNAU, R.; ZIMMERMAN, D.R.; NISSEN, S.L.; WANNEMUEHLER, M.; EWAN, R.C. Effects of excess dietary leucine and leucine catabolites on growth and immune responses in weanling pigs. **J Anim Sci.** 73(1):159-65, 1995.

GAUTSCH, T.A.; ANTHONY, J.C.; KIMBALL, S.R.; PAUL, G.L.; LAYMAN, D.K.; JEFFERSON, L.S. Eukaryotic initiation factor 4E availability regulates skeletal muscle protein synthesis during recovery from exercise. **Am. J. Physiol.** 274: C406-C414, 1998.

GOLL, D.E.; THOMPSON, V.F.; TAYLOR, R.G.; CHRISTIANSEN, J.A. Role of the canpain system in muscle growth. **Biochemie.** 74:225, 1992.

GREIWE, J.S.; CHENG, B.; RUBIN, D.C.; YARASHESKI, K.E.; SEMENKOVICH, C.F. Resistance exercise decreases skeletal muscle tumor necrosis factor α in frail elderly humans. **FASEB J.** 15:475-482, 2001.

GRUNE, T.; BLASIG, I.E.; SITTE, N.; ROLOFF, B.; HASELOFF, R.; DAVIES, K. Peroxynitrite increases the degradation of aconitase and other cellular proteins by proteasome. **J. Biol. Chem.** 273(18):10857-10862, 1998.

GUTTRIDGE, D.C.; MAYO, M.W.; MADRID, L.V.; WANG, C.Y.; BALDWIN, A.S. Jr. NF-kappaB-induced loss of MyoD messenger RNA: possible role in muscle decay and cachexia. **Science**. 289:2363-2366, 2000.

HAMEED, M.; ORRELL, R.W.; COBBOLD, M.; GOLDSPINK, G.; HARRIDGE, S.D. Expression of IGF-I splice variants in young and old human skeletal muscle after high resistance exercise. **J Physiol**. 15;547(Pt 1):247-54, 2003.

HARPER, J.W.; ADAMI, G.R.; WEI, N.; KEYOMARSI, K.; ELLEDGE, S.J. The p21 Cdk-interacting protein Cip1 is a potent inhibitor of G1 cyclin-dependent kinases. **Cell**. 19;75(4):805-16, 1993. (Abstract)

HARVIE, M.N.; CAMPBELL, I.T.; BAILDAM, A.; HOWELL, A. Energy balance in early breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy. **Breast Cancer Res Treat**. 83(3):201-10, 2004.

HASSIG, C.A.; TONG, J.K.; SCHREIBER, S.L. Fiber-derived butyrate and the prevention of colon cancer. **Chem Biol**. 4(11):783-9, 1997.

HEBER, D.; BYERLY, C.O.; CHLEBOWSKI, R.T. Medical abnormalities in the cancer patient. **Cancer**. 55:225-229, 1985.

HELLERSTEIN, M.K.; MEYDANI, S.; MEYDANI, M.; WU, K.; DINARELLO, C.A. Interleukin-I-induced anorexia in the rat: Influence of prostaglandins. **J. Clin. Invest**. 84:228, 1989.

HENRIKSSON, J. Effect of exercise on amino acid concentrations in skeletal muscle and plasma **Journal of Experimental Biology**, 160(1):149-165, 1991.

HERSH, E.V.; MOORE, P.A.; ROSS, G.L. Over-the-counter analgesics and anti-pyretics: a critical assessment. **Clin. Ther**. 22:500-548, 2000.

HILDEBRAND, R.; JANSEN, C.; WOLF, G. Transforming growth factor b stimulates urokinases expression in tumor-associated macrophages of the breast. **Lab Invest.** **78:** 59, 1998. In: KLIMP, A.H.; VRIES, E.G.E.; SCHERPHOF, G.L; DAEMEN, T. A potential role of macrophage activation in the treatment of cancer. **Oncol. Hematol.**, **44:** 143-161, 2002.

HILL, M., GOLDSPINK, G. Expression and splicing of the insulin-like growth factor gene in rodent muscle is associated with muscle satellite (stem) cell activation following local tissue damage. **J Physiol.** 1;549(Pt 2):409-18, 2003.

HIRAI, K.; HUSSEY, H.J.; BARBER, M.D.; PRICE, S.A.; TISDALE, M.J. Biological evaluation of a lipid-mobilizing factor isolated from the urine of cancer patients. **Cancer Res.** 58:2359-2365, 1998.

HOFFMAN-GOETZ, L.; HUSTED, J. Exercise and breast cancer: review and critical analysis of the literature. **Can J Appl Physiol.** 19(3):237-52, 1994. (Abstract).

HOLLOSZY, J.O.; COYLE, E.F. Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. **J. Appl. Physiol.** 56:831-838, 1984.

HOLROYDE, C.P.; REICHARDT, G.A. Carbohydrate metabolism in cancer cachexia **Cancer Treat. Rep.** 65(suppl 5):55-91, 1981.

HUSSAIN, I.; QURESHI, M.A. The expression and regulation of inducible nitric oxide synthase gene differ in macrophages from chickens of different genetic background. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 61:317-329, 1998.

INGBER, D.E. Tensegrity: the architectural basis of cellular mechanotransduction. **Annu. Rev. Physiol.** 59:575-599, 1997.

JANEWAY, C. A.; TRAVERS, P.; WALPORT, M. CAPRA, J. D. **Imunobiologia: o sistema imunológico na saúde e na doença.** Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2000.

JOWKO, E.; OSTASZEWSKI, P.; JANK, M.; ZIENIEWICZ, A.; WILCZAK, J.; NISSEN, S. Creatine and 3-hydroxy-3methylbutyrate (HMB) additively increase lean body mass and strength during a weight training program. **Nutrition** 17: 558-566, 2001.

JURIMAE, J.; ABERNETHY, P.J.; BLAKE, K.; McENIERY, M.T. Changes in the myosin heavy chain isoform profile of the triceps brachial muscle following 12 weeks of resistance exercise training. **Eur. J. Physiol.** 74:287-292, 1996.

KADI, F. Adaptation of human skeletal muscle to training and anabolic steroids. **Acta Physiol. Scand.** 168 suppl 646, 2000.

KALRA, P.S.; EDWARDS, T.G.; XU, B.; JAIN, M.; KALRA, S.P. The anti-gonadotropic effects of cytokines: the role of neuropeptides. **Domest Anim Endocrinol.** 15(5):321-332, 1998.

KERN, P.A.; SAGHIZADEH, M.; ONG, J.M.; BOSCH, R. J.; DEEM, R.; SIMSOLO, R.B. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue: regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. **J. Clin. Invest.** 95:2111-2119, 1995.

KIMBALL, S.R.; FARRELL, P.A.; JEFFERSON, L.S. Invited review: role of insulin in translational control of protein synthesis in skeletal muscle by amino acids or exercise. **J. Appl. Physiol.** 93:1168-1180, 2002.

KIMBALL, S.R.; VARY, T.C.; JEFFERSON, L.S. Regulation of protein synthesis by insulin. **Annu. Rev. Physiol.** 56:321-348, 1994.

KIMURA, M.; MIZUKAMI, Y.; MIURA, T.; FUJIMOTO, K.; KOBAYASHI, S.; MATSUZAKI, M. Orphan G protein-coupled receptor, GPR41, induces apoptosis via a p53/Bax pathway during ischemic hypoxia and reoxygenation. **J Biol Chem.** 3;276(28):26453-60, 2001.

KING, P.J.; WILLIAMS, G. Role of ARC NPY neurons in energy homeostasis. **Drugs News Perspect.** 11:420-410, 1998.

KLIMP, A.H.; VRIES, E.G.E.; SCHERPHOF, G.L.; DAEMEN, T. A potential role of macrophage activation in the treatment of cancer. **Oncol. Hematol.**, 44:143-161, 2002.

KRAEMER, W.J.; GORDON, S.E.; FLECK, S.J.; MARCHITELLI, L.J.; MELLO, R.; DZIADOS, J.E.; FRIEDL, K.; HARMAN, E.; MARESH, C.; FRY, A.C. Endogenous anabolic hormonal and growth factors responses to heavy resistance exercise in males and females. **Int. J. Sports Med.** 12:228-35, 1991.

LAKIER SMITH, L. Overtraining, excessive exercise, and altered immunity: is this a T helper-1 versus T helper-2 lymphocyte response? **Sports Med.**33(5):347-64, 2003.

LANGHANS, W. Peripheral mechanisms involved with catabolism. **Curr. Pin. Clin. Nutr. Metab. Care.** 5:419-26, 2002.

LAVIANO, A. RUSSO, M.; FREDA, F.; ROSSI-FANELLI, F. Neurochemical mechanisms for cancer anorexia. **Nutrition.** 18:100-5, 2002.

LAVIANO, A.; MEGUID, M.M.; YANG Z.J.; GLEASON, J.R.; CANGIANO, C.; FANELLI, F.R. Cracking the riddle of cancer anorexia. **Nutrition.**12(10):706-10, 1996.

LAWSON, D.H.; RICHMOND, A.; NIXON, D.H.; RUDMAN, D. Metabolic approaches to cancer cachexia. **Annu. Rev. Nutr.** 2:277-301, 1982.

LE POUL, E.; LOISON, C.; STRUYF, S.; SPRINGAEL, J.Y.; LANNON, V.; DECOBECQ, M.E.; BREZILLO, S.; DUPRIEZ, V.; VASSART, G.; VAN DAMME, J.; PARMENTIER, M.; DETHEUX, M. Functional characterization of human receptors for short chain fatty acids and their role in polymorphonuclear cell activation. **J Biol Chem.** 11;278(28):25481-9, 2003.

LECKER, S.H.; SOLOMON, V.; MITCH, W.E.; GOLDBERG, A.L. Muscle protein breakdown and the critical role of the Ubiquitin-Proteasome pathway in normal and disease states. **J. Nutr.** 129:227S-237S, 1999.

LEE I-MIN. Exercise and physical health: cancer and immune function. **Res. Q. Exerc. Sport.** 66:286-291, 1995.

LEEK, R.D.; LEWIS, C.E.; WHITEHOUSE, R.; GREENALL, M.; CLARKE, J.; HARRIS, A.L. Association of macrophage infiltration with angiogenesis and prognosis in invasive breast carcinoma. **Cancer Res.** 56: 4525, 1996.

LEIGHTON, B.; COOPER, G.J.S. Pancreatic amylin and calcitonin gene-related peptide cause resistance to insulin in skeletal muscle in vitro. **Nature**, 335:632-635, 1989.

LEIJ-HALFWERK S, DAGNELIE PC, VAN DEN BERG JW, WATTIMENA JD, HORDIJK-LUIJK CH, WILSON JP. Weight loss and elevated gluconeogenesis from alanine in lung cancer patients. **Am J Clin Nutr.** 2000 Feb;71(2):583-9.

LEUNG, P.S.; ARONSON, W. J.; NGO, T.H.; GOLDING, L. A.; BARNARD, R. J. Exercise alters the IGF axis in vivo and increases p53 protein in prostate tumor cells in vitro. **J Appl Physiol**, 96: 450 – 454, 2004.

LEVEY, D.L.; UDONO, H.; HEIKE, M.; SRIVASTAVA, P.K. Identification of a tumor-associated contact-dependent activity which reversibly down regulates cytolytic function of CD8+ T cells. **Cancer Immun.** 30;1:5, 2001.

LI, Q.; VERMA, I.M. NF-kB regulation in the immune system. **Nat. Rev. Immunol.** 2, 725–734, 2002.

LINDERMAN, J.K.; GOSELINK, K.L.; BOOTH, F.W.; MUKKU, V.R.; GRINDELAND, R.E. Resistance exercise and growth hormone as counter-measures for skeletal muscle atrophy in hind limb-suspended rats. **Am. J. Physiol.** 267:R365-R371, 1994.

LISSA, M.D. **Efeitos da suplementação com L-glutamina sobre a resposta imunitária de linfócitos e macrófagos, obtidos de ratos submetidos ao treinamento de natação.** Tese de Mestrado, Setor de Ciências Biológicas – UFPR, 2004.

LLOVERA, M.; CARBÓ, N.; LÓPEZ-SORIANO, J.; GARCIA-MARTÍNEZ, C.; BUSQUETS, S.; ALVAREZ, B.; AGELL, N.; COSTELLI, P.; LÓPEZ-SORIANO, F.J.; CELADA, A.; ARGILÉS, J.M. Different cytokines modulate ubiquitin gene expression in rat skeletal muscle. **Cancer Letters**. 133:83-87, 1998a.

LLOVERA, M.; GARCIA-MARTÍNEZ, C.; LÓPEZ-SORIANO, J.; CARBÓ, N.; AGELL, N.; LÓPEZ-SORIANO, F.J.; ARGILÉS, J.M. Role of TNF receptor 1 in protein turnover during cancer cachexia using gene knockout mice. **Mol. Cell. Endocrinol**. 142:183-189, 1998b.

LOIDL, P.; LOIDL, A.; PUSCHENDORF, B.; GROBNER, P. Lack of correlation between histone H4 acetylation and transcription during the *Physarum* cell cycle. **Nature**. 305:446-448, 1983.

LOPRINZI, C.L.; KUGLER, J.L.; SLOAN, J.A.; MAILLIARD, J.A.; KROOK, J.E.; WILWERDING, M.B.; ROWLAND, K.M.; CAMORIANO, J.K.; NOVOTNY, P.J.; CHRISTENSEN, B.J. Randomized Comparison of Megestrol Acetate Versus Dexamethasone Versus Fluoxymesterone for the Treatment of Cancer Anorexia/Cachexia. **J Clin Oncol** 17:3299-3306. 1999.

LORITE, M.J.; THOMPSON, M.G; DRAKE, J.L.; CARLING, G.; TISDALE, M.J. Mechanism of muscle protein degradation induced by a cancer cachectic factor. **Br. J. Cancer**. 78:850-856, 1998.

LU, Q.; CEDDIA, M.A.; PRICE, E.A.; YE, S.M.; WOODS, J.A. Chronic exercise increases macrophage-mediated tumor cytolysis in young and old mice. **Am J Physiol**. 276(2 Pt 2):R482-9, 1999.

MACDONALD, N.; EASSON, A. M.; MAZURAK, V.Z.; DUNN G.P.; BARACOS, V.E. Understanding and Managing Cancer Cachexia. **J Am Coll Surg** 197:143-161, 2003.

MacKINNON, L.T. Immunity in athletes. **Int. J. Sports Med.** 18:S62-S68, 1997.

MacVICAR, M.G., WINNINGHAM, M.L. Promoting the functional capacity of cancer patients. **Cancer Bull.** 38:235-239, 1986.

MacVICAR, M.G., WINNINGHAM, M.L.; NICKEL, J.L. Effect of aerobic interval training on cancer patients: functional capacity. **Nurs. Res.** 38:348-351, 1989.

MADHAVI, N.; DAS, V.N. Effects of n-3 and n-6 fatty acids on the survival of vineristine sensitive and resistant human cervical carcinoma cells, in vitro. **Cancer Lett.** 84:31-41, 1994.

MANDAL, M.; KUMAR, R. Bcl-2 expression regulates sodium butyrate-induced apoptosis in human MCF-7 breast cancer cells. **Cell Growth Differ.** 7(3):311-8,1996.

MARKS, P.A.; MILLER, T.; RICHON, V.M. Histone deacetylases. **Curr Opin Pharmacol.** 3(4):344-51, 2003.

MARTIGNONI, M.E.; KUNZE, P.; FRIESS, H. Cancer cachexia. **Mol Cancer.** 2:1-3, 2003.

MASTRO, A.M.; SCHLOSSER, D.A.; GROVE, D.S.; LINCOSKI, C.; PISHAK, S.A., GORDON, S.; KRAEMER, W.J. Lymphocyte subpopulations in lymphoid organs of rats after acute resistance exercise. **Med. Sci. Sports Exerc.** 31:74-81, 1999.

MATARASE, G.; LA CAVA, A. The intricate interface between immune system and metabolism. **TRENDS in Immunol.** 25(4):193-200, 2004.

MAUGHAN, R.J. Nutritional Strategies to Promote Muscle Hypertrophy. **Basic Appl. Myol.** 9 (6): 279-284, 1999.

MAY P.E.; BARBER A.; D'OLIMPIO J.T.; HOURIHANE A.; ABUMRAD N.N. Reversal of cancer-related wasting using oral supplementation with a combination of β -hydroxy- β -methylbutyrate, arginine, and glutamine. **Am J Surg.** 183(4):471-479, 2002.

MEGENEY, L.A.; KABLAR, B.; GARRETT, K.; ANDERSON, J.E.; RUDNICKI, M.A. MyoD is required for myogenic stem cell function in adult skeletal muscle. **Genes Dev.**15:1173-1183 1996.

MORIKAWA, A.; SUGIYAMA, T.; KOIDE, N.; MORI, I.; MU, M.M.; YOSHIDA, T.; HASSAN, F.; ISLAM, S.; YOKOCHI, T. Butyrate enhances the production of nitric oxide in mouse vascular endothelial cells in response to gamma interferon. **J. Endotoxin Res.** 10:33-38, 2004.

MORLEY, J.E. Anorexia, Sarcopenia, and Aging. **Nutrition.** 17:660-663, 2001.

MURPHY, E.A.; DAVIS, J.M.; BROWN, A.S.; CARMICHAEL, M.D.; MAYER, E.P.; GHAFFAR, A. Effects of moderate exercise and oat beta-glucan on lung tumor metastases and macrophage antitumor cytotoxicity. **J Appl Physiol.** 97(3):955-9, 2004.

NEWSHOLME, E.A.; CALDER, P.C. The proposed role of glutamine in some cells of immune system and speculative consequences for the whole animal. **Nutrition** 13:728-30, 1997.

NIEMAN DC, PEDERSEN BK. Exercise and immune function. Recent developments. **Sports Med.** 27(2):73-80,1999.

NIEMAN, D.C.; COOK, V.D.; HENSON, D.A.; SUTTLES, J.; REJESKI, W.J.; RIBISL, P.M.; FAGOAGA, O.R.; NEHLSSEN-CANNARELLA, S.L. Moderate exercise training and natural killer cell cytotoxic activity in breast cancer patients. **Int. J. Sports Med.** 16:334-337, 1995.

NISSEN, S.; SHARP, R.; RAY, M.; RATHMACHER, J.A.; RICE, D.; FULLER, J.C. JR; CONNELLY, A.S.; ABUMRAD, N. Effect of leucine metabolite beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on muscle metabolism during resistance-exercise training. **J Appl Physiol.** 81(5):2095-104,1996.

NISSEN, S.L.; ABUMRAD, N.N. Nutritional role of the leucine metabolite β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB). **Nutr. Biochem.** 8:300-311, 1997.

NOGUCHI, Y.; MAKINO, T.; YOSHIKAWA, T.; NOMURA, K.; FUKUZAWA, K.; MATSUMOTO, A.; YAMADA, T. The possible role of TNF-alpha and IL-2 in inducing tumor associated metabolic alterations. **Surg. Today.** 26:36-41, 1996.

NONNECKE, B.J.; FRANKLIN, S.T.; NISSEN, S.L. Leucine and its catabolites alter mitogen-stimulated DNA synthesis by bovine lymphocytes. **J. Nutr.** 121:1665-1672, 1991.

OSTASZEWSKI, P.; KOSTIUK, S.; BALASINSKA,M.; JANK, M.; PAPET, I.; GLOMOT, F. The leucine metabolite 3-hydroxy-3methylbutyrate (HMB) modifies protein turnover in muscles of laboratory rats and domestic chickens *in vitro*. **J. Anim. Physiol Anim Nutr.** 84: 1-8, 2000.

PALMER, R.M. Prostaglandins and the control of muscle protein synthesis and degradation. **Prost. Leuk. Essent. Fatty Ac.** 39:95-104, 1990.

PARRY-BILLINGS, M.; BAIGRIE, R.J.; LAMONT, P.M.; MORRIS, P.J.; NEWSHOLME, E.A. Effects of major and minor surgery on plasma glutamine and cytokine levels. **Arch Surg.** 127(10):1237-40, 1992.

PEDERSEN, B.K.; BRUUNSGAARD, H.; OSTROWSKI, K.; KRABBE, K.; HANSEN, H.; KRZYWKOWSKI, K.; TOFT, A.; SONDERGAARD, S.R.; PETERSEN, E.W.; IBFELT, T.; SCHJERLING, P. Cytokines in aging and exercise. **Int. J. Sports Med.** 21 Suppl. 1:S4-S9, 2000.

PEDERSEN, B.K.; TOFT, A.D. Effects of exercise on lymphocytes and cytokines. **Br. J Sports Med.** 34:246-51, 2000.

PETERSON, A.L.; QURESHI, M.A.; FERKET, P.R.; FULLER Jr, J.C. In vitro exposure with β -hydroxy- β -methylbutyrate enhances chicken macrophage growth and function. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 67:67-78, 1999.

PHILLIPS, S.M.; TIPTON, K.D.; FERRANDO, A.A.; WOLFE, R.R. Resistance training reduces the acute exercise-induced increase in muscle protein turnover. **Am. J. Physiol. Endocrinol Metab.** 276:E118-E124, 1999.

PICK, E; MIZEL, M. Rapid microassays for the measurement superoxide and hydrogen peroxide production by macrophages in culturing using an automatic enzyme immunoassay reader. **J. Immunol. Methods.** 46:211-226, 1981.

PIFFAR, P.M.; FERNANDEZ, R.; TCHAIKOVSKI, O.; HIRABARA, S.M.; FOLADOR, A.; PINTO, G.J.; JAKOBI, S.; GOBBO-BORDON, D.; ROHN, T.V.; FABRICIO, V.E.; MORETTO, K.D.; TOSTA, E.; CURI, R.; FERNANDES, L.C. Naproxen, clenbuterol and insulin administration ameliorates cancer cachexia and reduce tumor growth in Walker 256 tumor-bearing rats. **Cancer Lett.** 25;201(2):139-48, 2003.

PINTO, J.A. JR; FOLADOR, A.; BONATO, S.J.; AIKAWA, J.; YAMAZAKI, R.K.; PIZATO, N.; FACIN, M.; GROHS, H.; DE OLIVEIRA, H.H.; NALIWAIKO, K.; FERRAZ, A.C.; NISHIYAMA, A.; FERNANDEZ, R.; CURI, R.; FERNANDES, L.C. Fish oil supplementation in F1 generation associated with naproxen, clenbuterol, and insulin administration reduce tumor growth and cachexia in Walker 256 tumor-bearing rats. **J Nutr Biochem.** 15(6):358-65, 2004.

PIPE, R.K.; COLES, J.A.; FARLEY, S.R. Assays for measuring immune response in the mussel *Mytilus edulis*. **Tech. Fish Immunol.** 4:93-100, 1995.

PLATA-SALAMAN, C.R. Anorexia during acute and chronic disease. **Nutrition.** 12:67-78, 1996.

POWERS, S.K.; HOWLEY, E.T. **Fisiologia do Exercício, Teoria e Aplicação ao Condicionamento e ao Desempenho**. 1ª ed., Manole: Barueri-SP, 2000, 527p.

PRABHAKARAN, B.; DOWLING, E.A.; BRANCH, J.D.; SWAIN, D.P.; LEUTHOLTZ, B.C. Effect of 14 weeks of resistance training on lipid profile and body fat percentage in premenopausal women. **Br J Sports Med.**;33(3):190-5, 1999.

REID, M.B.; LI, Y.P. Cytokines and oxidative signaling in skeletal muscle. **Acta Physiol Scand.** 171:225-232, 2001.

ROBERGS, R.A.; ROBERTS, S.O. **Princípios Fundamentais de Fisiologia do Exercício para a aptidão, desempenho e saúde**. 1ª ed., Phorte editora: São Paulo-SP, 2002, 489 p.

ROGATTO, G.P.; LUCIANO, E. Efeitos do treinamento físico intenso sobre o metabolismo de carboidratos. **Atividade Física & Saúde** (6) 2:39-46, 2001.

ROUBENOFF, R.; McDERMOTT, a.; WEISS, L.; SURI, J.; WOOD, M.; BLOCH, R.; GORBACH, S. Short-term progressive resistance training increases strength and lean body mass in adults infected with human immunodeficiency virus. **AIDS.** 13:231-239, 1999.

ROUBENOFF, R.; WILSON, I.B. Effect of resistance training on self-reported physical functioning in HIV infection. **Med Sci. Sports Exerc.** 33:1811-1817, 2001.

SATTLER, F.R.; JAQUE, V.; SCHROEDER, T. ; OLSON, C.; DUBE, M.P.; MARTINEZ, C.; BRIGGS, L.; HORTON, R.; AZEN, S. Effects of pharmacological doses of nandrolone decanoate and progressive resistance training in immuno deficient patients infected with human immunodeficiency virus. **J. Clin. Endocrinol Metab.** 84:1268-1276, 1999.

SCHWARTZ, A.L.; MORI, M.; GAO, R.; NAIL, L.M.; KING, M.E. Exercise reduces daily fatigue in women with breast cancer receiving chemotherapy. **Med. Sci. Sports Exerc.** 33:718-723, 2001.

SEGAL, R.J.; REID, R.D.; COURNEYA, K.S.; MALONE, S.C.; PARLIAMENT, M.B.; SCOTT, C.G.; VENNER, P.M.; QUINNEY, H.A.; JONES, L.W.; SLOVINEC D'ANGELO, M.E.; WELLS G.A. Resistance Exercise in Men Receiving Androgen Deprivation Therapy for Prostate Cancer. **J Clin Oncol.** 1: 1653-59, 2003.

SEGAR, M.L.; KATCH, V.L.; ROTH, R.S.; GARCIA, ^aW.; PORTNER, T.I.; GLICKMAN, S.G.; HASLANGER, S.; WILKINS, E.G. The effect of aerobic exercise on self-esteem and depressive and anxiety symptoms among breast cancer survivors. **Oncol. Nurs. Forum.** 25:107-113, 1998.

SEIP, R.L.; ANGELOPOULOS, T.J.; SEMENKOVICH, C.F. Exercise induces human lipoprotein lipase gene expression in skeletal muscle but not adipose tissue. **Am. J. Physiol.** 268:E229-E236, 1995.

SEIP, R.L.; MAIR, K.; COLE, T.G.; SEMENKOVICH, C.F. Induction of human skeletal muscle lipoprotein lipase gene expression by short-term exercise is transient. **Am. J. Physiol.** 272:E255-E261, 1997.

SENGA, T.; IWAMOTO, S.; YOSHIDA, T.; YOKOTA, T.; ADACHI, K.; AZUMA, E.; HAMAGUCHI, M.; IWAMOTO, T. LSSIG is a novel murine leukocyte-specific GPCR that is induced by the activation of STAT3. **Blood.** 1;101(3):1185-7, 2003.

SHEPARD, R.J.; SHEK, P.N. Cancer, immune function, and physical activity. **Can J Appl. Physiol.** 20:1-25, 1995.

SIPILA, S.; TAAFFE, D.R.; CHENG, S.; PUOLAKKA, J.; TOIVANEN, J.; SUOMINEN, H. Effects of hormone replacement therapy and high-impact physical exercise on skeletal muscle in post-menopausal women: a randomized placebo-controlled study. **Clin Sci (Lond).**101(2):147-57, 2001.

SIWICKI, A.K.; FULLER Jr, J.C.; NISSEN, S.; OSTASZEWSKI, P.; STUDNICKA, M. In vitro effects of β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) on cell-mediated immunity in fish. **Vet. Immunol. Immunopatol.** 76:191-197, 2000.

SIWICKI, A.K.; FULLER Jr, J.C.; NISSEN, S.; MORAND, M.; POZET, F.; VINCENT, F.; KAZUN, B. Effect of HMB (β -hydroxy- β -methylbutyrate) on *in vitro* Proliferative Responses of Sheatfish (*Silurus glanis*) and Catfish (*Ictalurus melas*) Lymphocytes Stimulated by mitogens. **Acta Vet. Brno.** 73: 199-122, 2004.

SIWICKI, A.K.; MORAND, M.; FULLER Jr, J.; NISSEN, S.; GORYCZKO, K.; OSTASZEWSKI, P.; KAZUN, K.; GLOMBSKI, E. Influence of feeding the leucine metabolite β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) on the non-specific cellular and humoral defence mechanisms of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **J. Appl. Ichthyol.** 19:44-48, 2003.

SMITH, H.J.; MUKERJI, P.; TISDALE, M.J. Attenuation of Proteosome-Induced Proteolysis in Skeletal Muscle by β -hydroxy- β -methylbutyrate in Cancer-Induced Muscle Loss. **Cancer Res** 65(1):277-83, 2005.

SMITH, H.J.; WYKE, S.M.; TISDALE, M.J. Mechanism of the Attenuation of Proteolysis-Inducing Factor Stimulated Protein Degradation in Muscle by β -hydroxy- β -methylbutyrate. **Cancer Res** 64 8731-35, 2004a.

SMITH, H.J.; WYKE, S.M.; TISDALE, M.J. Role of Protein Kinase C and NF- κ B in proteolysis inducing factor induced proteosome expression in C2C12 myotubes. **Br. J. Cancer.** 90:1850-57, 2004b.

SMITH, J.A.; GRAY, A.B.; PYNE, D.B.; BAKER, M.S.; TELFORD, R.D.; WEIDEMANN, M.J. Moderate exercise triggers both priming and activation of neutrophil subpopulations. **Am J Physiol.** 270(4 Pt 2):R838-45, 1996.

SPINA, R.J.; CHI, M.M.Y.; HOPKINS, M.G.; NEMETH, P.M.; LOWRY, O.H.; HOLLOSZY, J.O. Mitochondrial enzymes increase in muscle in response to 7-10 days of cycle exercise. **J. Appl. Physiol.** 80:2250-2254, 1996.

STALLION, A; FOLEY-NELSON, T; CHANCE, W. T.; FISHER, J.E. Effects of increased β 2-Agonist dose in tumor-bearing animals. **Nutrition and Cancer.** 20(3):251-260, 1993.

STUEHR, P. J.; MARLETTA, M.A. Mammalian nitrate biosynthesis: mouse macrophages produce nitrite and nitrate in response to *Escherichia coli* lipopolysaccharide. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 82: 7738-7742, 1985.

SUGIURA, H.; NISHIDA, H.; SUGIURA, H.; MIRBOD, S.M. Immunomodulatory action of chronic exercise on macrophage and lymphocyte cytokine production in mice. **Acta Physiol. Scand.** 174:247-256, 2002.

SUNDERKOTTER, C.; STEINBRINK, K.; GOEBELER, M.; BHARDWAJ, R.; SORG, C. Macrophages and angiogenesis. **J Leukoc Biol.** 55:410-420, 1994.

TAMAKI, T.; SHUICHI, U.; NAKANO, S. A weight-lifting exercise model for inducing hypertrophy in the hind limb muscles of rats. **Med. Sci. Sports Exerc.** 24:881-886, 1992.

TASHIRO, T.; YAMAMORI, H.; TAKAGI, K.; HAYASHI, N.; FURUKAWA, K.; NAKAJIMA, N. n-3 Versus n-6 polyunsaturated fatty acids in critical illness. **Nutrition,** 14: 551-553, 1998.

TAYEK, A.J. A review of cancer cachexia and abnormal glucose metabolism in humans with cancer. **J. Am. Coll. Nutr.** 4:445-446, 1992.

THEOLOGIDES, A. Cancer cachexia. **Cancer.** 43(5 Suppl):2004-2012, 1979

THOMPSON, M.P.; KOONS, J.E.; TAN, E.T.H.; GRIGOR, M.R. Modified lipoprotein lipase activities, rate of lipogenesis, and lipolysis as factors leading to lipid depletion

in C57BL mice bearing the preputial gland tumor ESR-586. **Cancer Res.** 41:3228-32232, 1981.

THOMPSON, P.D.; YURGALEVITCH, S.M.; FLYNN, M.M.; ZMUDA, J.M.; SPANNAUS-MARTIN, D.; SARITELLI, A.; BAUSSERMAN, L.; HERBERT, P.N. Effect of prolonged exercise training without weight loss on high-density lipoprotein metabolism in overweight men. **Metabolism.** 46(2):217-23, 1997.

TISDALE, M.J. Biology of cachexia. **J. Natl. Cancer Inst.** 89:1763-1773, 1997.

TISDALE, M.J. Cancer anorexia and cachexia. **Nutrition.** 17:438-442, 2001.

TISDALE, M.J. Protein loss in cancer cachexia. **Science.** 289:2293-2295, 2000.

TODOROV, P.T.; FIELD, W.N.; TISDALE, M.J. Role of a proteolysis-inducing factor (PIF) in cachexia induced by a human melanoma (G361). **Br J Cancer.** 80(11):1734-1737, 1999.

TODOROV, P.T.; MCDEVITT, T.M.; CARIUK, P.; COLES, B.; DEACON, M., TISDALE, M.J. Induction of muscle protein degradation and weight loss by a tumor product. **Cancer Res.** 56(6):1256-1261, 1996.

TONG, X.; YIN, L.; WASHINGTON, R.; ROSENBERG, D.W.; GIARDINA, C. The p50-p50 NF-kappaB complex as a stimulus-specific repressor of gene activation. **Mol Cell Biochem.** 265(1-2):171-83, 2004.

TORTI, F.M.; DIEKMANN, B.; BEUTLER, B.; CERAMI, A.; RINGOLD, G.M. A macrophage factor inhibits adipocyte gene expression: an "in vitro" model of cachexia. **Science.** 229:867-869, 1985.

TRAPPE, T.A.; FLUCKEY, J.D.; WHITE, F.; LAMBERT, C.P.; EVANS, W.J. Skeletal muscle PGF_{2α} and PGE₂ in response to eccentric resistance exercise: Influence of Ibuprofen and Acetaminophen. **J Clin. Endocrinol. Metab.** 86:5067-5070, 2001.

VANDEBURGH, H.H.; SHANSKY, J.; KARLISCH, P.; SOLERSSI, R. Mechanical stimulation of skeletal muscle generates lipid-related second messengers by phospholipase activation. **J Cell Physiol.** 155:63-71, 1993.

VANDEBURGH, H.H.; SHANSKY, J.; SOLERSSI, R.; CHROMIAK, J. Mechanical stimulation of skeletal muscle increases prostaglandin F_{2α} production, cyclooxygenase activity, and cell growth by a pertussis toxin sensitive mechanism. **J Cell Physiol.** 163:285-294, 1995.

VASSILATIS, D.K.; HOHMANN, J.G.; ZENG, H.; LI F.; RANCHALIS, J.E.; MORTRUD, M.T.; BROWN, A.; RODRIGUEZ, S.S.; WELLER, J.R.; WRIGHT; A.C.; BERGMANN, J.E.; GAITANARIS, G.A. The G protein-coupled receptor repertoires of human and mouse. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 15;100(8):4903-8, 2003.

VIEIRA, R.; NASCIMENTO, R. ARIZAWA, S.; CURI, R. Development equipments lymphocytes isolation and culture. **Arq. Biol. Technol.** 33:819-829, 1990.

VLISSARA, H.; SPIEGEL, R.J.; SAN DOVAL, D.; CERAMI, A. Reduced plasma lipoprotein lipase activity in patients with malignancy-associated weight loss. **Horm. and Met. Res.** 18:698-703, 1986.

VUKOVICH, M.D.; SLATER, G. MACCHI, M. B.; TURNER, M.J.; FALLON, K.; TANYA, B.; RATHMACHER, J. β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) kinetics and the influence of glucose ingestion in humans. **J. Nutr. Biochem.** 12:631-639, 2001.

VUKOVICH, M.D.; STUBBS, N.B.; BOHLHEN, R.M. Body composition in 70-year old adults responds to dietary 3-hydroxy-3-methylbutyrate (HMB) similar to that of young adults. **J. Nutr.** 131(7): 2049-2052, 2001.

WAGNER, G.; RABKIN, J.; RABKIN, R. Exercise as a mediator of psychological and nutritional effects of testosterone therapy in HIV+ men. **Med. Sci. Sports Exerc.** 30:811-817, 1998.

WATERHOUSE, C. Lactate metabolism in patients with cancer. **Cancer**, 33:66-71, 1974.

WESTERLIND K.C.; MCCARTY H.L.; SCHULTHEISS P.C.; STORY R.; REED A.H.; BAIER M.L.; STRANGE R. Moderate exercise training slows mammary tumor growth in adolescent rats. **Eur J Cancer Prev.** 12(4):281-7,2003.

WHITEHOUSE, A.S.; SMITH, H.J.; DRAKE, J.L.; TISDALE, M.J. Mechanism of attenuation of skeletal muscle protein catabolism in cancer cachexia by Eicosapentanoic Acid. **Cancer Res.** 61:3604-3609, 2001.

WILMORE, J. K.; COSTILL, D. L. **Fisiologia do Esporte e do Exercício.** 1^a ed., Manole, Barueri-SP, 2001, 709p.

WINETT, R.A.; CARPINELLI, R.N. Potential health-related benefits of resistance training. **Prev. Med.** 33:503-513, 2001.

WINNINGHAM, M.L.; MacVICAR, M.G. The effect of aerobic exercise on patient reports of nausea. **Oncol. Nurs. Forum**, 15:447-450, 1988.

WISE, A.; JUPE, S.C.; REES, S. The identification of ligands at orphan G-protein coupled receptors. **Annu Rev Pharmacol Toxicol.**;44:43-66, 2004.

WOJTASZEWSKI, J.F.P.; NIELSEN, J.N.; RICHTER, E.A. Invited Review: Effect of acute exercise on insulin signaling and action in humans. **J Appl Physiol.** 93:384-392, 2002.

WOODS, J.A.; DAVIS, J.M.; SMITH, J.A., NIEMAN, D.C. Exercise and cellular innate immune function. **Med. Sci. Sports Exerc.** 31:57-66, 1999.

YAMAMOTO, I.; MATSUNAGA, T.; SAKATA, K.; NAKAMURA, Y.; DOI, S.; HANMYOU, F. Histone hyperacetylation plays a role in augmentation of IL-4-induced IgE production in LPS-stimulated murine B-lymphocytes by sodium butyrate. **J. Biochem (Tokyo)** 199:1056-1061, 1996.

YARASHESKI, K.E.; PAK-LODUCA, J.; HASTEN, D.L.; OBERT, K.A.; BROWN, M.B.; SINACORE, D.R. Resistance exercise training increases mixed muscle protein synthesis rate in frail women and men \geq 76 yr old. **Am. J. Physiol.** 277(1 pt 1):E118-E125, 1999.

YASPELKIS, B.B. 3RD; SINGH, M.K.; TREVINO, B.; KRISAN, A.D.; COLLINS, D.E. Resistance training increases glucose uptake and transport in rat skeletal muscle. **Acta Physiol Scand.** Aug;175(4):315-23, 2002.

YOUNG, C.; GEAN, P.W.; WU, S.P.; LIN, C.H.; SHEN, Y.Z. Cancellation of low frequency stimulation- induced long-term depression by docosahexaenoic acid in rat hippocampus. **Neuroscience Letters**, **247**: 198-200, 1998.

YOUNG-McCAUGHAN, S.; SEXTON, D.L. A retrospective investigation of the relationship between aerobic exercise and quality of life in women with breast cancer. **Oncol. Nurs. Forum.** 18:751-757, 1991.

ZAMBON, A.C.; MCDEARMON, E.L.; SALOMONIS, N.; VRANIZAN, K.M.; JOHANSEN, K.L.; ADEY, D.; TAKAHASHI, J.S.; SCHAMBELAN, M.; CONKLIN, B.R. Time- and exercise-dependent gene regulation in human skeletal muscle. **Genome Biol.**;4(10):R61, 2003.

ZIELINSKI, M.R.; MUENCHOW, M.; WALLIG, M.A.; HORN, P.L.; WOODS, J.A. Exercise delays allogeneic tumor growth and reduces intratumoral inflammation and vascularization. **J Appl Physiol.** 96(6):2249-56, 2004.

ZINNA, E.M.; YARASHESKI, K.E. Exercise treatment to counteract protein wasting of chronic diseases. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care.** 6(1):87-93, 2003.