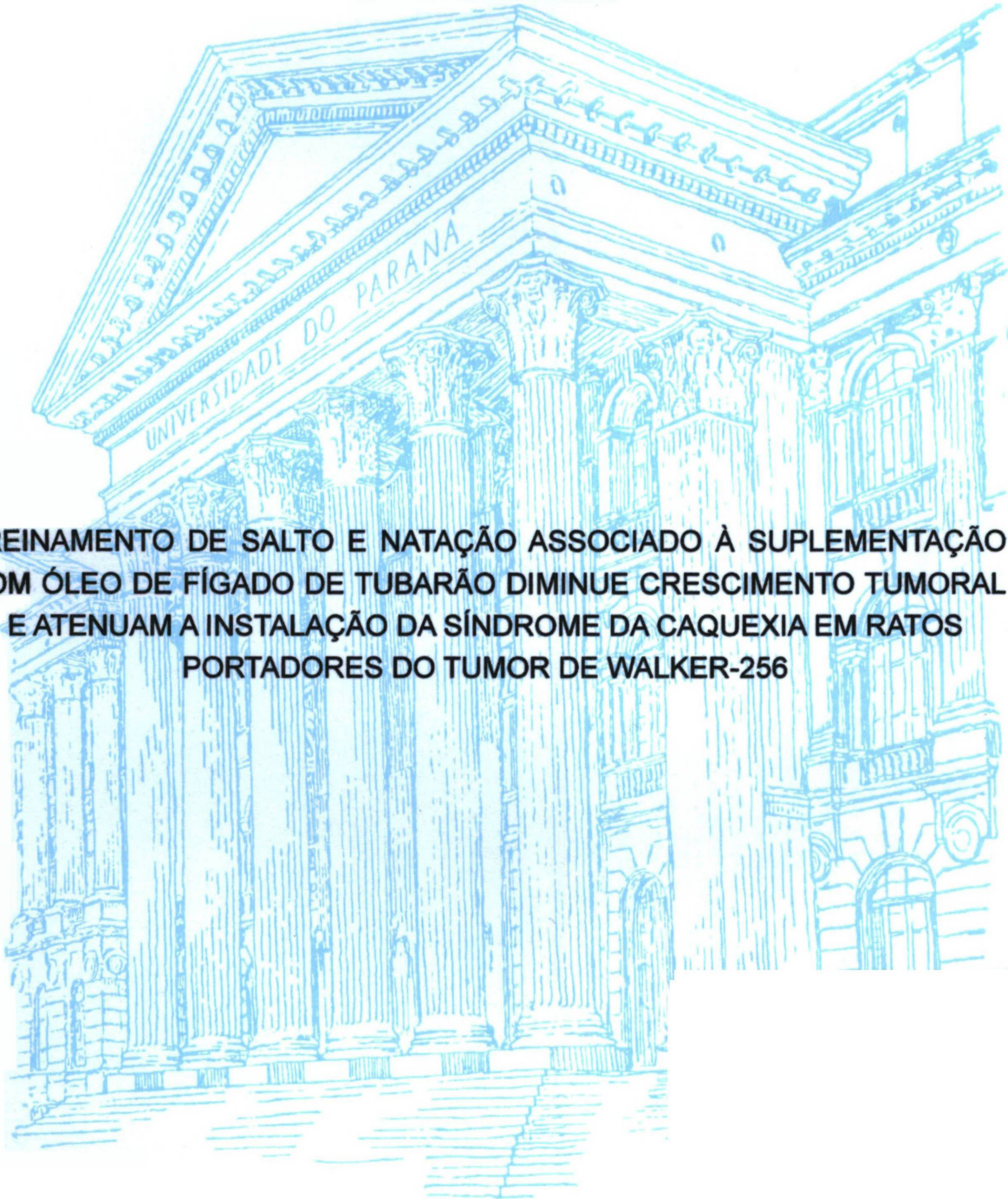


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARCELO KRYCZYK



TREINAMENTO DE SALTO E NATAÇÃO ASSOCIADO À SUPLEMENTAÇÃO
COM ÓLEO DE FÍGADO DE TUBARÃO DIMINUI CRESCIMENTO TUMORAL
E ATENUAM A INSTALAÇÃO DA SÍNDROME DA CAQUEXIA EM RATOS
PORTADORES DO TUMOR DE WALKER-256

CURITIBA

2011

MARCELO KRYCZYK

**TREINAMENTO DE SALTO E NATAÇÃO ASSOCIADO À SUPLEMENTAÇÃO COM
ÓLEO DE FÍGADO DE TUBARÃO DIMINUE CRESCIMENTO TUMORAL E
ATENUAM A INSTALAÇÃO DA SÍNDROME DA CAQUEXIA EM RATOS
PORTADORES DO TUMOR DE WALKER-256**

**CURITIBA
2011**

MARCELO KRYCZYK

**TREINAMENTO DE SALTO E NATAÇÃO ASSOCIADO À SUPLEMENTAÇÃO COM
ÓLEO DE FÍGADO DE TUBARÃO DIMINUE CRESCIMENTO TUMORAL E ATENUA
A INSTALAÇÃO DA SÍNDROME DA CAQUEXIA EM RATOS PORTADORES DO
TUMOR DE WALKER-256**

Tese de Doutorado, 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 Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Cláudio Fernandes

**CURITIBA
2011**

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

Departamento de Biologia Celular e Departamento de Fisiologia
Setor de Ciências Biológicas
Universidade Federal do Paraná
Instituto Carlos Chagas (ICC/FIOCRUZ)

PARECER

A banca examinadora, instituída pelo colegiado do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, do Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná, composta por:

Prof. Dr. Luiz Cláudio Fernandes
Orientador e presidente da banca
Universidade Federal do Paraná

Prof. Dr. Celso Kenji Miyasaka
Universidade Cruzeiro do Sul

Prof. Dr. João Carlos Domingues Repka
Hospital Angelina Caron

Profa. Dra. Andréa Novais Moreno
Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Prof. Dr. Ricardo Fernandez Perez
Universidade Federal do Paraná

E tendo como suplentes,

Profa. Dra. Anita Nishiyama
Universidade Federal do Paraná

Profa. Dra. Carolina Camargo de Oliveira
Universidade Federal do Paraná

Após argüir o doutorando **Marcelo Kryczyk**, em relação ao seu trabalho intitulado: "**Treinamento de salto e natação associado à suplementação com óleo de fígado de tubarão diminui crescimento tumoral e atenuam a instalação da síndrome da caquexia em ratos portadores do tumor de Walker-256**" são de parecer favorável à **aprovação** do acadêmico, habilitando-o ao título de DOUTOR em Biologia Celular e Molecular.

A obtenção do título está condicionada à implementação das correções sugeridas pelos membros da banca examinadora e ao cumprimento integral das exigências estabelecidas no Regimento interno deste Programa de Pós-Graduação.

Prof. Dr. Edvaldo da Silva Trindade
Coordenador do Programa de Pós-Graduação
em Biologia Celular e Molecular - UFPR
Matr. 185795

Curitiba, 31 de agosto de 2011



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA)



CERTIFICADO N.º 293

O Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, instituído pela PORTARIA N.º 787/03-BL, de 11 de junho de 2003, com base nas normas para a constituição e funcionamento do CEEA, estabelecidas pela RESOLUÇÃO N.º 01/03-BL, de 09 de maio de 2003, e considerando o contido no Regimento Interno do CEEA, **CERTIFICA** que os procedimentos que utilizam animais no projeto de pesquisa abaixo especificado estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e exigências estabelecidas em "*Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canadian Council on Animal Care)*".

APROVADO.

PROCESSO: 23075.038116/2007-28

RO 10/2007 - 11/12/2007

TÍTULO: Efeitos do tratamento de saltos e natação associado à suplementação com óleo de fígado de tubarão, sobre caquexia e crescimento tumoral em ratos portadores do tumor de Walker-256

AUTORES: Luiz Cláudio Fernandes, Marcelo Kryczyk, Jaisson Bordignon, Fabíola Iagher, Sandro Bonatto, Andressa Franzói Machado, Danielle Cristina Tonello Pequeto

DEPARTAMENTO:

Fisiologia

Curitiba,

19 de dezembro de 2007.

Dedico este trabalho aos meus Pais Josefa e Augustinho pelo constante incentivo aos estudos. Em especial a minha mãe Josefa por me apoiar e participar sempre.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida....

Primeiramente gostaria de agradecer a minha família em especial aos meus Pais Augustinho e Josefa por não medirem esforços durante toda minha formação sem o apoio afetivo e financeiro de vocês eu nunca teria conseguido. Aos meus irmãos Dionei e Deize e meus cunhados Antonio Carlos e Ludmila por todos os momentos de conversas e conselhos. Aos pequenos da família que tanto nos alegram Helena, Vinicius, Maria Julia e ao mais novo membro que está para chegar Gabriel, sem vocês não seríamos tão felizes.

Em especial ao Professor Luiz Cláudio Fernandes. Chefe, tenho grande admiração pelo Senhor, não só pela sua competência profissional, mas por todos os ensinamentos proporcionados durante todos esses anos. O respeito e dedicação com que o Senhor trata seus alunos faz com que seja uma pessoa admirada, querida e respeitada por todos. Tenho você Chefe como referência. Obrigado pela oportunidade de fazer parte da família LabMetab isso é motivo de muito orgulho.

Agradeço aos Professores Dr. Celio Kenji Miyasaka, Dr. João Carlos Domingues Repka, Dr. Andréa Novais Moreno, Dr. Ricardo Fernandez Perez, Dr. Anita Nishiyama e Dr. Carolina Camargo de Oliveira, por prontamente aceitarem o convite de participar da banca de avaliação deste trabalho.

Ao meu amigo Jaisson por toda a ajuda e tempo de convivência.... Você é uma das pessoas mais ética, séria e competente que eu conheço, tenho por você muito respeito e admiração. É Galo Véio, lembra de quando começamos.... as disciplinas, o trabalho a fazer, quantos ratos a treinar, quanta correria e louça para lavar durante os experimentos. É meu amigo, foi bem trabalhoso, mas também muito gratificante. Superamos todas as dificuldades e nosso trabalho está aí, muito obrigado por toda a ajuda e foi um prazer poder trabalhar com você. Parte deste doutorado devo a você. Muito obrigado.

A Professora Dorly por todos os conselhos e esclarecimentos e suas alunas Ana e Simone pela parceria na realização de alguns experimentos, muito obrigado.

Ao pessoal do lab. que eu sempre podia pedir socorro nos inúmeros momentos de dúvidas: Everson, Gleisson, Fabiola, Ricardo, Katya e Sandro, galera muito obrigado pela paciência e por toda a contribuição, valeu mesmo.

Aos meus amigos de laboratório: Adriana, Ana Muritiba, Andressa, Dani Pequito, Carina, Dalton e suas meninas (Tati, Carol e Bruna, valeu pela força nos treinos dos ratos), Diogo, Elo, Gina, Izabela, Juliano, Julia, Katya, Karla, Luciana, Luiz Alexandre, Loli, Paulo, Pedro, Renata, Richelli, Thiago Massuda. Pessoal muito obrigado por toda a força nos experimentos e por todos os momentos de descontração juntos.

Ao Luizão do biotério pela ajuda com os ratos e por todos que, de alguma forma, participaram desse trabalho.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. JUSTIFICATIVA	32
3. OBJETIVOS	33
4. MATERIAIS E MÉTODOS	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
6. CONCLUSÃO.....	60
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	-	Ácido araquidônico
ALA	-	Ácido graxo α -linolênico
ACSM	-	Colégio Americano de Medicina e Esporte
Apaf-1	-	Fator de indução de proteases apoptóticas -1
AMP	-	Adenosina monofosfato
ATP	-	Adenosina trifosfato
COX	-	Ciclooxigenase
CPM	-	Contagem por minuto
DHA	-	Ácido docosa-hexaenóico
DNA	-	Ácido Desoxirribonucleico
E1	-	Enzima ativadora de ubiquitina
E2	-	Enzima de conjugação de ubiquitina
E3	-	Proteína ligase de ubiquitina
EDL	-	Músculo <i>extensor digitorum longus</i>
EPA	-	Ácido eicosapentaenóico
EPM	-	Erro padrão da média (EPM)
EX	-	Grupo exercitado
EXA	-	Grupo exercitado suplementado com óleo de fígado de tubarão
EXW	-	Grupo exercitado portador de tumor
EXWA	-	Grupo exercitado portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão
HSL	-	Lipase hormônio-sensível
IGF -1	-	Fator de crescimento parecido com a insulina - 1
IGFBP-1	-	Proteína ligante ao IGF-1
LA	-	Ácido graxo linoléico
LDh	-	Lactato desidrogenase
LOX	-	Lipoxigenase
LPL	-	Lipase lipoprotéica
MAF bx	-	<i>Muscle atrophy F box</i>
MURF 1	-	<i>Muscle RING finger 1</i>
NAD ⁺	-	Nicotinamida-adenina-dinucleotídeo

NADH	- Nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-forma reduzida
NF-kB	- Fator de transcrição nuclear kappa B
PBS	- Tampão Fosfato-salina
PKA	- Proteína quinase A
PKC	- Proteína quinase C
Rpm	- Rotação por minuto
S	- Grupo sedentário
SDS-page	- Eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil sulfato de sódio
SA	- Grupo sedentário suplementado com óleo de fígado de tubarão
SW	- Grupo sedentário portador de tumor
SWA	- Grupo sedentário portador do tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão
TCA	- Ácido tricloroacético
Ub	- Ubiquitina
VO ₂ máx	- Consumo máximo de oxigênio

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

TABELAS

TABELA 1: Parâmetros Bioquímicos 43

TABELA 2: 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..... 44

FIGURAS

FIGURA 1: Via proteolítica da Ubiquitina Proteossomo 15

FIGURA 2: Perfil do consumo de gordura e ácidos graxos da espécie humana ao longo dos anos. Adaptado de SIMOPOULOS, 2002..... 22

FIGURA 3: Representação esquemática das diferentes famílias de ácidos graxos. Adaptado de ROSE & CONNOLLY, 1999..... 23

FIGURA 4: Via biossintética dos ácidos graxos poliinsaturados. Enzimas desaturases $\Delta 5$, $\Delta 6$, $\Delta 9$, $\Delta 12$ e $\Delta 15$; enzima ciclooxigenase (COX); enzima lipoxigenase (LOX); prostaglandinas (PG); leucotrienos (LT); tromboxanas(TX); lipoxina(LX); ácido hidroieicosatetraenóico (HETE); ácidos hidroxiperóxieicosatetraenóicos (HPETE). Fonte: CALDER, 2001..... 24

FIGURA 5: Estrutura química das moléculas de alquilglicerol mais comuns..... 25

FIGURA 6: Estrutura química da molécula de esqualamina..... 25

FIGURA 7: Estrutura química das moléculas que apresentam alquilglicerol em seus esqueletos carbônicos..... 26

FIGURA 8: Estrutura química do 1-O-(2-metóxi)-hexadecilglicerol, um alquilglicerol metóxi substituído encontrado no óleo de fígado de tubarão..... 27

FIGURA 9: Via de sinalização do fator nuclear kappa B (NF- κ B)..... 29

FIGURA 10: Via de sinalização da MAPK/ERK crescimento e diferenciação celular..... 31

FIGURA 11: Parâmetros bioquímicos. Glicemia (mg/dL), Lactatemia (mmol/L) e Triacilglicerolemia (mg/dL)..... 42

FIGURA 12: Peso do tumor (g)..... 47

FIGURA 13: Proliferação de célula tumoral “ex vivo” em contagem por minuto (cpm) das células do tumor de Walker – 256.....	50
FIGURA 14: Fosforilação da proteína pERK 1/2 em tecido tumoral (unidades arbitrárias).....	51
FIGURA 15: Apoptose (%) de células do tumor de Walker – 256.....	52
FIGURA 16: Necrose (%) de células do tumor de Walker – 256.....	53
FIGURA 17: Lipoperoxidação (nmol/mg proteína no tumor).....	54
FIGURA 18: Relação da expressão de Bax/Bcl-2 em tecido tumoral (unidades arbitrárias).....	56
FIGURA 19: Expressão de p65, p52 e I κ B- α em tecido tumoral (unidades arbitrárias).....	58

RESUMO

Caquexia é um quadro de catabolismo intenso que ocorre simultaneamente ao crescimento tumoral, presente em até dois terços dos indivíduos com câncer terminal. Simples mudanças de hábitos, como alimentação saudável, não fumar e praticar atividades físicas regularmente, podem diminuir fatores de risco de desenvolvimento de doenças. Objetivo deste estudo foi investigar o efeito do exercício físico associado à suplementação com óleo de fígado de tubarão sobre a caquexia e crescimento tumoral. Ratos foram distribuídos em oito grupos: Sedentário (S), Sedentário suplementado com óleo de fígado de tubarão (SA), Exercitado (EX), Exercitado suplementado com óleo de fígado de tubarão (EXA), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (SWA), Exercitado portador de tumor (EXW) e Exercitado portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (EXWA). Os grupos exercitados realizaram programa de treinamento, constituído de 6 séries de saltos com 1 minuto de intervalo, sobrecarga de 50% do seu peso corporal acoplada ao tórax, cinco minutos após o término do treinamento de saltos os mesmos grupos exercitados foram submetidos a 30 minutos de natação com uma carga equivalente a 6% do peso corpóreo. Foram realizadas 4 sessões semanais de treinamento durante 8 semanas. Na sexta semana de treinamento foram inoculadas 1 mL de células do tumor de Walker-256 (3×10^7 células) nos grupos SW, SWA, EXW e EXWA. Os ratos foram ortotansados 15 dias após a inoculação do tumor, sendo coletado sangue, tecidos e células. O grupo SW apresentou hipoglicemia ($68,67 \pm 2,12$ mg/dL), hiperlactatemia ($1,489 \pm 0,061$ mmol/L), hipertriacilglicerolemia ($161,4 \pm 9,43$ mg/dL) e perda de peso ($23,01 \pm 1,47$ g) caracterizando quadro de caquexia. Os grupos SWA, EXW e EXWA apresentaram atenuação da caquexia quando comparados com o grupo SW. Os tumores dos grupos SWA, EXW e EXWA tiveram diminuição da proliferação celular, menor fosforilação da proteína pERK1/2, aumento da produção de hidroperóxidos lipídicos e maior número de células tumorais em apoptose. A relação da expressão de Bax/Bcl-2 aumentou somente nos grupos EXW e EXWA, nestes mesmos grupos houve aumento da expressão da proteína p65 e p52. Quando analisado o peso do tumor, proliferação de células tumorais e apoptose, observou-se efeito aditivo da associação do exercício físico com a suplementação com óleo de fígado de tubarão. Tanto a suplementação com óleo de fígado de tubarão, como o exercício físico diminuem a instalação da caquexia e o crescimento tumoral.

Palavras-Chave: Exercício físico, câncer, caquexia, óleo de fígado de tubarão.

ABSTRACT

Cachexia is an intense catabolic state occurring mainly in terminal cancer patients. Simple changes in habits such as healthy diet, not smoking and practicing regular physical activity may reduce risk factors for development of diseases. This study investigated the effect of physical activity associated with shark liver oil supplementation on cachexia and tumor growth. Rats were divided into 8 groups: sedentary (S), sedentary shark liver oil supplemented (SA), Exercised (EX), Exercised shark liver oil supplemented (EXA), sedentary tumor-bearing (SW), sedentary tumor-bearing shark liver oil supplemented (SWA), exercised tumor-bearing (EXW) and exercised tumor-bearing shark liver oil supplemented (EXWA). Training sessions consisted of 6 bouts, 30 seconds each with 50% body-weight load attached to the back followed by 1 minute of resting. Five minutes after the jump training the same exercise groups were subjected to 30 minutes of swimming with a load equivalent to 6% of body weight, during 4 times a week during 8 weeks. A suspension of Walker 256 tumor cells (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 and tumor tissue were harvested. The group SW showed hypoglycemia (68.67 ± 2.12 mg/dL), hyperlactacidemia (1.49 ± 0.061 mmol/L), hypertriglycerolemia (161.4 ± 9.4 mg/dL) and weight reduction (23.01 ± 1.47 g) characterizing cachexia state. The groups SWA, EXW and EXWA have tumor cells proliferation, phosphorylation of protein pERK1/2 production of hydroperoxide and apoptosis reduction. The ratio Bax/Bcl-2 increased only in the groups EXW and EXWA, but in these groups expression protein p65 and p52 decrease. When we analyse the tumor weight, proliferation of tumor cells and apoptosis, we observed an additive effect of the association of exercise with supplementation with shark liver oil. The shark liver oil supplementation as exercise reduces the installation of cachexia and tumor growth.

Keywords: Physical exercise, cancer, cachexia, shark liver oil.

1. INTRODUÇÃO

1.1 CÂNCER E CAQUEXIA

Câncer é um grupo de doenças com mais de quatrocentos diagnósticos histológicos distintos, caracterizada pela perda do controle do ciclo celular e possível invasão de tecidos circundantes. Este fenótipo resulta em alterações gênicas que serão transmitidas das células alteradas para as células filhas (BALMAIN *et al.*, 2003). Anormalidades nos genes estimuladores de divisão celular (oncogenes), como nos protetores ou bloqueadores do ciclo celular (genes supressores tumorais), podem conferir às células tumorais vantagens de crescimento e desenvolvimento sobre as células saudáveis (DUNLOP; CAMPBELL, 2000). No entanto, os tumores apresentam grande heterogeneidade celular relacionada à sua forma de crescimento e interações dinâmicas com o microambiente celular que estão em constantes modificações (BISSELL; RADISKY, 2001). Estas interações relacionam-se por distintas vias de sinalização celular, moléculas de adesão (caderinas e integrinas) (HYNES, 2002), fatores de crescimento, fibroblastos, células epiteliais, células do sistema imunitário (inato e adaptativo), células mesenquimatosas, assim como células que formam vasos sanguíneos e linfáticos (CHE *et al.*, 2006; KELLY, 2008). Esta heterogeneidade pode interferir diretamente no comportamento fenotípico das células tumorais, como por exemplo, proliferação, apoptose e migração destas células (GILES; LOBERG, 2006). Segundo o Instituto nacional do Câncer (INCA), no Brasil, as estimativas para o ano de 2010 e 2011 apontam para a ocorrência de 489.270 novos casos de câncer. Os tipos mais incidentes, com exceção do câncer de pele do tipo não melanoma, serão os cânceres de próstata e de pulmão no sexo masculino e os cânceres de mama e colo do útero no sexo feminino, acompanhando o mesmo perfil da magnitude observada para a América Latina. Comumente, o paciente com câncer pode sofrer de náuseas, depressão, diminuição da capacidade aeróbica, fadiga, diminuição da força muscular e flexibilidade, atrofia e acentuada perda de massa muscular (FEARON *et al.*, 2006). Estas podem ser manifestações relacionadas à síndrome da caquexia, que é caracterizada pela instalação de um quadro de catabolismo intenso simultaneamente ao crescimento tumoral, presente em até dois terços dos indivíduos que morrem de câncer (MACDONALD *et al.*, 2003). A elevada competição por nutrientes entre o tumor e o hospedeiro promove

distúrbios metabólicos e aumento considerável do gasto energético diário, além da presença de anorexia favorecendo a considerável redução da massa corpórea. (EVANS *et al.*, 2008). Diversos mediadores parecem estar envolvidos na instalação da anorexia em indivíduos com câncer. Entre eles observam-se alterações na concentração das citocinas IL-6, IL-1 e TNF, estas parecem atuar diretamente no centro controlador da fome no hipotálamo, estimulando a liberação de supressores do apetite, como aumento da concentração do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e diminuição de hormônios estimuladores como o neuropeptídeo-Y (ARGILES *et al.*, 2005)

Os mecanismos, desencadeados pela presença do tumor, para induzir a perda de tecido muscular não são totalmente esclarecidos. Evidências apontam para liberação de citocinas pró-inflamatórias e ativação de vias proteolíticas, dentro das células musculares que participam deste processo (ZHANG, 2009). A ativação destes fatores leva a alterações no metabolismo protéico muscular, acarretando, aumento da degradação e diminuição da síntese protéica, resultando em balanço nitrogenado negativo (TISDALE, 2004). Na caquexia, por ser um processo catabólico profundo, observa-se que os estoques de proteínas, carboidratos e lipídios estão alterados (EVANS *et al.*, 2008). No metabolismo de carboidratos, ocorre aumento da concentração de lactato circulante (acidemia láctica), modificações na tolerância à glicose, gliconeogênese hepática alterada e elevada atividade do ciclo de Cori. Um dos fatores relacionados a estes desequilíbrios é o alto consumo de glicose pela via anaeróbica e produção de lactato apresentada pela maioria dos tumores sólidos (ARGILÉS *et al.*, 1997). Nessa condição catabólica ocorre à conversão de lactato em glicose no fígado por gliconeogênese, processo conhecido como ciclo de Cori (DUNLOP; CAMPBELL, 2000), o qual normalmente é responsável por 20% do *turnover* da glicose. Em indivíduos com caquexia sua atividade está aumentada em até 50%, sendo responsável por 60% do lactato produzido. A conversão de glicose em lactato nas células tumorais produz duas moléculas de ATP, enquanto a conversão de lactato em glicose no fígado requer seis moléculas de ATP (TISDALE, 2005), gerando assim um gasto energético de aproximadamente 300 Kcal/dia para o indivíduo caquético (EDEN, 1984).

No metabolismo de proteínas, acentuada proteólise muscular permite o fornecimento de aminoácidos, principalmente alanina e glutamina para a produção de glicose no fígado e nos rins, respectivamente. Os aminoácidos liberados a partir

da musculatura esquelética também podem ser utilizados pelo tumor como substrato energético (TISDALE, 2001). A degradação das proteínas intracelulares pode ser controlada por três vias: sistema lisossomal, sistema Ca^{++} dependente, e via proteolítica ATP-ubiquitina dependente. As três vias podem estar envolvidas na caquexia, mas o sistema ATP-ubiquitina dependente é a mais importante. O proteossomo não degrada miofibrilas intactas, a degradação de bandas-Z no músculo com subsequente perda de actina e miosina do sarcômero é mediada pela enzima Ca^{++} dependente calpaína (HASSELGREN *et al.*, 2001). Os sistemas lisossomal e Ca^{++} dependentes contribuem com 15 a 20% do total de proteínas musculares degradadas, enquanto a via proteossomo ubiquitina é considerada a principal responsável pela perda muscular em humanos (WILLIAMS *et al.*, 1999; BILOLO *et al.*, 2000) e modelos animais com caquexia (LORITE *et al.*, 1998). Nesse processo, as proteínas selecionadas para degradação são primeiramente associadas com uma pequena proteína, a ubiquitina, um sinal para degradação no proteossomo 26S, o qual é um grande complexo de multi-subunidades que requer ATP para seu funcionamento (FIGURA 1).

Existem pelo menos seis ATPases associadas com o proteossomo 26S que atuam constantemente, fornecendo energia para degradação de proteínas (TANAKA, 1998). Para que a proteína se ligue ao proteossomo é necessário que ela seja desdobrada e este processo requer energia. O proteossomo é uma estrutura tubular, constituída de uma pilha com quatro anéis, incluindo dois anéis- α exteriores e dois anéis- β interiores. A atividade proteolítica é observada nas β -subunidades no lado interno do proteossomo (ATTAIX *et al.*, 1997). A ubiquitina é ativada e presa à proteína por uma série de enzimas: E1, enzima ativadora de ubiquitina; E2, enzima de conjugação de ubiquitina; e E3, proteína ligase de ubiquitina. (FIGURA 1). A disponibilidade de proteínas para a ubiquitinação é dependente do equilíbrio entre a taxa de conjugação e a taxa de desubiquitinação (RAJAPUROHITAM *et al.*, 2002). Somente proteínas selecionadas serão reconhecidas por E3s e direcionadas à degradação. Apesar disso, duas ubiquitinas ligases no músculo, MURF 1 (*muscle RING finger 1*) e MAF bx (*muscle atrophy F box*), estão elevadas no músculo esquelético em condições de degradação protéica aumentada, indicando ser uma limitação para a taxa de conjugação da ubiquitina (BODINE *et al.*, 2001).

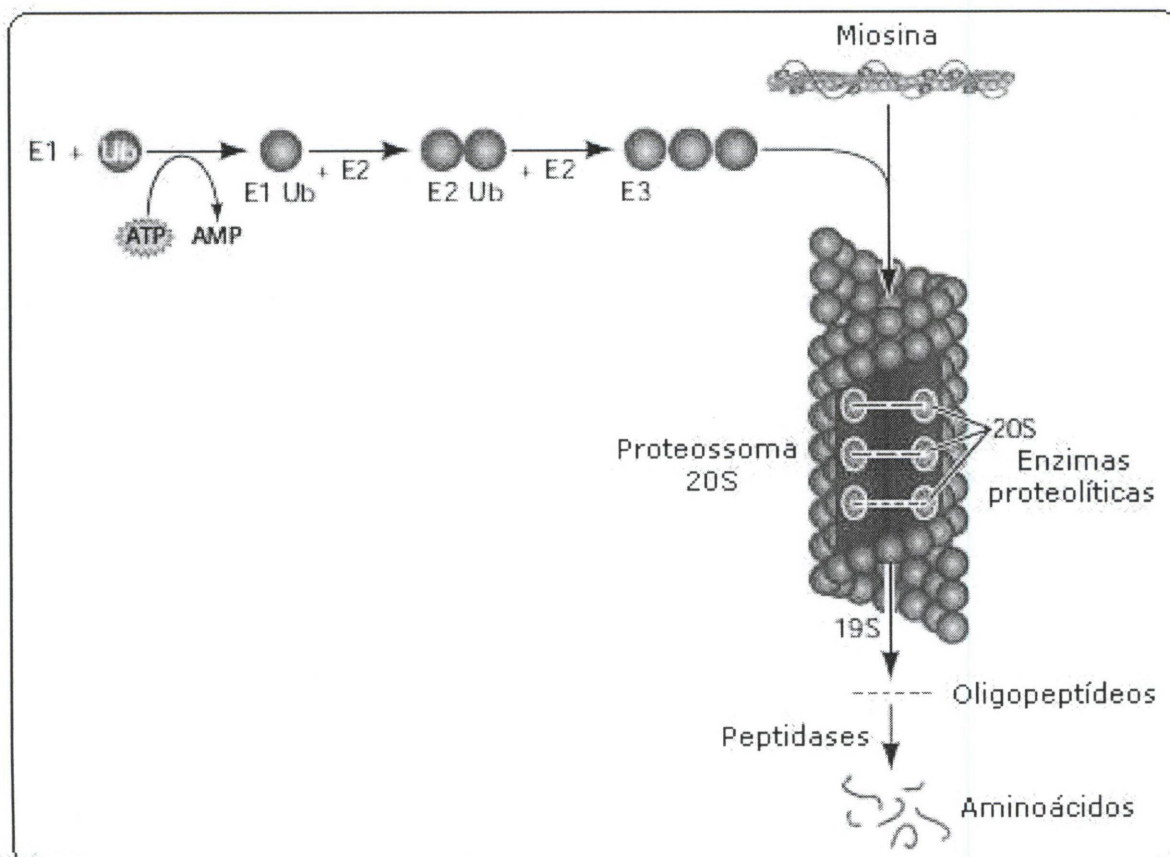


FIGURA 1: Via proteolítica da Ubiquitina Proteossomo. Detalhamento do seu processo descrito no texto.

Abreviaturas: AMP = adenosina monofosfato; ATP = adenosina trifosfato; E1 = enzima ativadora de ubiquitina; E2 = enzima de conjugação de ubiquitina; E3 = proteína ligase de ubiquitina; MAF bx = *muscle atrophy F box*; MURF 1 = *muscle RING finger 1*; Ub = ubiquitina.

Finalmente, as mudanças no metabolismo de lipídios se caracterizam por hiperlipidemia, depleção de estoques de triacilglicerol (TISDALE, 2001) e alterações no complexo carnitina palmitoil-CoA transferase (CPT), responsável pela utilização de ácidos graxos de cadeia longa no fígado e outros tecidos (SEELAENDER, 1994). Cerca de 85% do tecido adiposo pode ser perdido durante o processo de caquexia, seja pela lipólise aumentada ou diminuição da lipogênese (KELLY, 2008). A redução dos estoques de lipídios e a hiperlipidemia, observadas em pacientes portadores de tumor, podem ser resultantes 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. Estas mudanças são basicamente devidas à queda na atividade da lipase lipoprotéica (LPL) e aumento na atividade da lipase hormônio sensível (HSL). Ocorre também inibição do transporte

de glicose para os tecidos e redução na capacidade de síntese de novos ácidos graxos, devida a menor atividade de enzimas-chave da liponeogênese, como a acetil-Coa carboxilase (ARGILÉS *et al.*, 2005). A diminuição da atividade da lipase lipoprotéica (LPL) acarreta em hipertriacilglicerolemia e compromete a absorção de lipídios pelo tecido adiposo e muscular (RICHIERI *et al.*, 2000).

1.2 CÂNCER E ATIVIDADE FÍSICA

O interesse pela prática de atividade física como meio primário na prevenção do câncer e outras doenças vem aumentando gradativamente, em virtude dos efeitos protetores ocasionados pelo exercício físico regular (WINZER *et al.*, 2011). A recomendação atual do Colégio Americano de Medicina e Esporte (American College of Esporte Medicine – ACSM, 2002), é que adultos saudáveis (HASKELL *et al.*, 2007) e sobreviventes ao tratamento contra o câncer (SCHMITA, 2010) realizem no mínimo 30 minutos de exercícios físicos de moderada intensidade cinco dias por semana. O *American Institute for Cancer Research (AICR)* e *World Cancer Research Fund (WCRF)*, preconizam um programa de exercícios físicos mais intensos para reduzir o risco de desenvolvimento do câncer: sessenta minutos de exercícios físicos com intensidade moderada ou trinta minutos de exercícios com intensidade vigorosa, diariamente (WORLD CANCER RESEARCH FUND/AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH, 2007).

Evidências recentes, apontam para um possível efeito protetor do exercício físico regular que variam entre 20 a 30% para os casos de câncer de pulmão (WORLD CANCER RESEARCH FUND/AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH, 2007); FRIEDENREICH *et al.*, 2010; ELIASSEN *et al.*, 2010; MONNINKHOF *et al.*, 2007) e endométrio (WORLD CANCER RESEARCH FUND/AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH, 2007; VOSKUIL *et al.*, 2007). Outras evidências sugerem efeitos benéficos para os casos de câncer de próstata (MOORE *et al.*, 2008) e ovário (OLSEN *et al.*, 2007).

Cerca de 25% dos casos de câncer estão associados ao sobrepeso e a um estilo de vida sedentário (McTIERNAN *et al.*, 2008). O tecido adiposo funciona como órgão endócrino e pode favorecer o desenvolvimento de células cancerosas de forma significativa alterando o metabolismo hormonal (WINZER *et al.*, 2011). Estudos observacionais apresentam evidências convincentes que o excesso de

tecido adiposo é fator de risco para os casos de câncer de colorretal, mama (pós-menopausa), endométrio, esôfago (adenocarcinoma), pâncreas e rins (WORLD CANCER RESEARCH FUND/AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH, 2007)

O efeito protetor do exercício físico contra o câncer, pode estar relacionado ao controle do peso corpóreo, ou talvez por alterar diversas vias biológicas relevantes para o desenvolvimento da doença como: hiperinsulinemia, inflamação crônica, funções imunológicas, concentrações de adipocinas e hormônios esteróides sexuais (McTIERNAN, 2008).

Entre os benefícios proporcionados pelo exercício, foi demonstrado o restabelecimento da função pulmonar, aumento da força muscular, e conseqüentemente, melhor mobilidade e autonomia. Pacientes com câncer que participaram de programas de exercícios físicos mantiveram melhores níveis da condição física e sofreram menos angústia psicológica, fadiga e outros sintomas relacionados ao tratamento durante a quimioterapia ou radioterapia (SEGAL *et al.* 2001). O exercício é capaz de atenuar a perda de massa muscular induzida pela síndrome da caquexia e de aumentar a sobrevivência de roedores inoculados com tumor (AL-MAJID; McCARTHY, 2001b). A atividade física promove efeitos benéficos para a síntese protéica e promove a redução da concentração de cortisol (importante indutor de proteólise), preservando assim os níveis de massa muscular do indivíduo, mesmo com a presença do tumor em constante competição com o organismo por nutrientes (DANERYD *et al.*, 1995). Além de preservar a massa muscular, o exercício proporciona, aos pacientes com câncer que utilizam dessa prática, aumento no consumo máximo de oxigênio (McVICAR *et al.*, 1989) redução na sensação de náuseas (WINNINGHAM *et al.*, 1988), diminuição no percentual de gordura corporal e melhora na qualidade de vida (BURNHAM; WILCOX, 2002). Em modelos animais, os benefícios promovidos pelo exercício físico incluem: inibição da tumorigênese (BARRACOS, 1989), diminuição da taxa de crescimento tumoral e do aparecimento de metástases, além do aumento da síntese protéica muscular (AL-MAJID; McCARTHY, 2001b).

1.2.1 CÂNCER E EXERCÍCIO AERÓBICO

O exercício aeróbico tem por característica, alto número de repetições, executadas por longos períodos de tempo, contra sobrecarga relativamente baixa (AL-MAJID; McCARTHY, 2001a), como a caminhada, natação, ciclismo ou corrida em esteira. Atividades com essas características têm a capacidade, em indivíduos saudáveis, aumentar a resistência muscular à fadiga, devido às adaptações musculares proporcionadas por este tipo de exercício. Dentre as adaptações estão: aumento do número de vasos sanguíneos musculares; aumento do número de mitocôndrias e aumento da atividade das enzimas mitocondriais, o que acarreta em melhora da capacidade oxidativa muscular (HOLLOSZY; COYLE, 1984; SPINA et al., 1996).

As células musculares obtêm energia por duas vias metabólicas. Na primeira via, carboidratos e gorduras são oxidadas e produzem água e gás carbônico na mitocôndria. A energia produzida é armazenada na forma de adenosina trifosfato (ATP). Este processo só ocorre na presença de oxigênio, sendo denominado de aeróbico. Quando a quantidade de oxigênio se encontra reduzida, as células utilizam uma segunda via metabólica, denominada de anaeróbica. Nesta via, a glicose é metabolizada, gerando ATP e ácido láctico. O fornecimento de oxigênio para as cristas mitocôndriais é fator crítico na regulação da produção de energia. A entrada adequada de oxigênio para as células depende da integridade de todas as ligações em cadeia complexa que regulam a captação de oxigênio, transporte e difusão. Várias mudanças funcionais e anatômicas devido ao tratamento contra o câncer podem afetar o fornecimento de oxigênio para as células. Alterações da árvore brônquica, perfusão pulmonar, superfície alveolar, funções cardíacas e concentração de enzimas oxidativas nas células musculares podem ser afetadas pelo fornecimento reduzido de oxigênio. Tanto o câncer como seu tratamento podem produzir prejuízo na entrada de oxigênio pela via aeróbica acarretando em deficiência na produção de energia (DIMEO, 2001).

Por muitos anos a recomendação médica para pacientes com câncer era o repouso, evitando assim esforços físicos. Esta orientação era prescrita de forma empírica, porque a doença e seu tratamento estavam associados com mudanças funcionais que resultavam em menor desempenho físico e o exercício poderia potencializar sintomas como fadiga, falta de ar e taquicardia. Porém, a inatividade física gera perda de massa muscular e da capacidade cardiorespiratória. Estudos

realizados nos últimos anos esclareceram conceitos relacionados ao exercício físico, fadiga em pacientes com câncer. Informações advindas desses estudos mostraram que o exercício pode diminuir o quadro de fadiga em pacientes com câncer durante e após o tratamento (COURNEYA et al., 2005). Estes resultados estão relacionados aos ganhos adaptáveis do exercício físico, como aumento de massa muscular (BURNHAM, 2002), melhora no sistema cardiorespiratório (KNOLS et al., 2005) e maior concentração de enzimas oxidativas no músculo (BRAITH et al., 1998).

Estas alterações decorrentes da prática de exercícios físicos são o oposto daquilo causado pelo câncer e seu tratamento. Em estudo realizado com bicicleta estacionária, pacientes com câncer de mama, submetidos à quimioterapia foram treinados durante 10 semanas, 30 minutos, três vezes por semana, obtendo aumento significativo do desempenho físico quando comparados com os do grupo controle. Em outro estudo, DIMEO et al. (1996), demonstraram que pacientes que realizaram transplante de medula óssea participaram de programa de exercícios físicos durante seis semanas, com caminhadas diárias, durante 30 minutos. Ao final do programa de treinamento, todos apresentaram melhor condicionamento físico e menor concentração de lactato durante a caminhada a uma velocidade submáxima. Em outro estudo realizado por DIMEO et al. (1997), pacientes portadores de tumores sólidos submetidos ao tratamento de quimioterapia participaram de um programa de exercício aeróbico durante o período de hospitalização que constituía de 30 minutos de atividade, em bicicleta estacionária. O exercício era realizado durante 1 minuto com intensidade suficiente para alcançar 50% da frequência cardíaca de reserva. O procedimento foi realizado 15 vezes com intervalo de um minuto a cada um minuto de exercício. Entre os vários resultados positivos encontrados nos pacientes que realizaram o treinamento aeróbico durante o período de hospitalização, destacou-se que a taxa de neutropenia no grupo treinado foi significativamente menor que a do grupo controle. Uma das principais complicações após o tratamento quimioterápico era a neutropênia. Outro ponto observado além da melhora do sistema imunitário foi à reconstituição das células epiteliais intestinais, proporcionando quadros menos severos de diarreia no grupo treinado, além de menor utilização de analgésicos e menor tempo de hospitalização.

1.2.2 CÂNCER E EXERCÍCIO CONTRA RESISTIDO

O exercício contra resistido é caracterizado pela execução de múltiplas, porém poucas repetições, envolvendo contrações musculares estáticas ou dinâmicas, executadas contra alta sobrecarga ou resistência (EVANS *et al.*, 1998). 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 modelos animais (TAMAKI *et al.*, 1992). Esse tipo de exercício também contribui para menor perda de tecido muscular que se manifesta em idades mais avançadas (YARASHESKI *et al.*, 1999; GREIWE *et al.*, 2001), na síndrome da imunodeficiência adquirida (WAGNER; RABKIN, 1998; SATTLER *et al.*, 1999), na atrofia muscular por desuso (LINDERMAN *et al.*, 1994; FERRANDO *et al.*, 1997) e no câncer (LIMA *et al.*, 2011, AL-MAJID & MCCARTHY, 2001a). O treinamento de força é componente importante de qualquer programa de treinamento para pessoas saudáveis (LUCIA *et al.*, 2003). De acordo com *American College of Sports Medicine ACSM (2002)*, 6-7 semanas de treinamento de força são suficientes para obter resultados mensuráveis de hipertrofia muscular.

Estudo realizado por AL-MAJID; MCCARTHY (2001) demonstrou que camundongos com câncer submetidos a oito sessões de treinamento de força tiveram atenuação da perda de massa muscular e depleção protéica do músculo *extensor digitorum longus* (EDL). Esta atenuação foi paralela ao aumento no conteúdo de proteína muscular, sugerindo que o aumento no peso muscular foi devido ao aumento na massa muscular total e não devido ao edema. Em outro estudo realizado por LIMA *et al* (2011), ratos inoculados com tumor de Walker-256 submetidos ao protocolo de treinamento de saltos, durante 8 semanas, apresentaram diminuição no crescimento tumoral, preservação da massa corporal e atenuação de algumas mudanças no quadro metabólico causada pela síndrome da caquexia.

Segal *et al.*, (2003) investigaram os efeitos de programa de 12 semanas de treinamento força, avaliando os níveis de fadiga, qualidade de vida e aptidão muscular e composição corporal de 155 homens submetidos ao tratamento contra câncer de próstata. Os indivíduos do grupo exercitado apresentaram menor quadro

de fadiga, melhora na qualidade de vida, maior aptidão muscular quando comparados com o grupo controle.

1.3 ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS

Desde 1960, estudos epidemiológicos sugerem correlação entre ácidos graxos e aparecimento de tumores. Há estimativa que 30% de todos os casos estejam ligados à dieta, demonstrando que consumo excessivo de gorduras saturadas e ácidos graxos n-6 e baixa ingestão de ácidos graxos n-3, facilitam o aparecimento de doenças cardiovasculares (LANDS, 2008) e câncer (TANAKA *et al.*, 2008). Os hábitos alimentares são fatores ambientais importantes, considerando que os genes da espécie humana hoje são similares aos genes de nossos ancestrais de 40 milhões de anos atrás, enquanto que mudanças alimentares tomaram lugar apenas nos últimos 200 anos estimuladas pelas Revoluções Agrícola e Industrial. Estudo evolutivo da dieta humana mostra que nossos ancestrais, do período Paleolítico, consumiam grande quantidade de proteínas, cálcio, potássio e agentes antioxidantes. Com a industrialização, houve aumento das calorias obtidas a partir das gorduras, em particular das saturadas e ácidos graxos n-6, associado a decréscimo na ingestão de n-3, antioxidantes e cálcio, em particular nas populações ocidentais. Este aumento no consumo de n-6 nos últimos 100 anos (FIGURA 2) foi devido ao desenvolvimento da tecnologia na extração de óleos vegetais para uso na culinária doméstica (SIMOPOULOS, 2002).

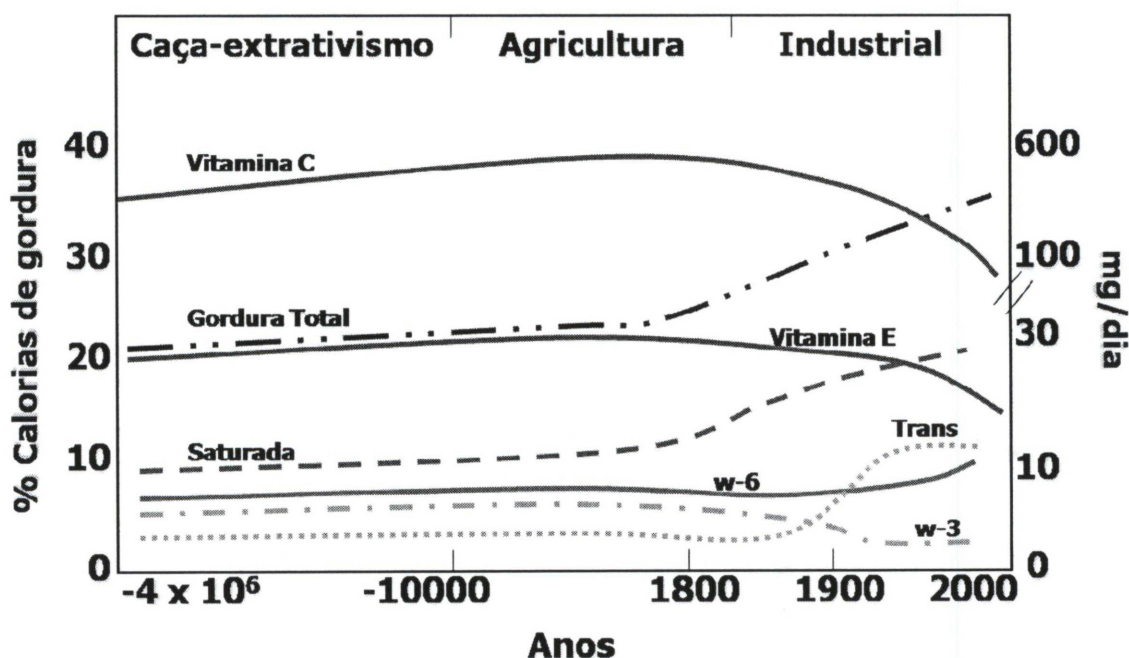


FIGURA 2: Perfil do consumo de gordura e ácidos graxos da espécie humana ao longo dos anos. Adaptado de SIMOPOULOS, 2002.

Ácidos graxos poliinsaturados são aqueles que apresentam duas ou mais duplas ligações em sua cadeia hidrocarbônica, sendo que os ácidos graxos n-6 possuem a primeira dupla ligação no sexto átomo de carbono, contando-se a partir da extremidade metila da molécula. Os ácidos graxos n-3 apresentam a primeira insaturação no terceiro átomo de carbono. O ácido linoléico (18:2n-6) é exemplo de ácido graxo n-6 com 18 átomos de carbono e 2 duplas ligações, enquanto que o ácido α -linolênico (18:3n-3) pertence à família dos ácidos graxos n-3 e apresenta 18 átomos de carbono e 3 duplas ligações (SALA-VILA; CALDER, 2008)

Estes dois ácidos graxos não podem ser sintetizados por mamíferos, incluindo os seres humanos, portanto devem ser obtidas da dieta, sendo assim, considerados ácidos graxos essenciais (DOMMELS *et al.*, 2002; ROSE; CONNOLLY, 1999).

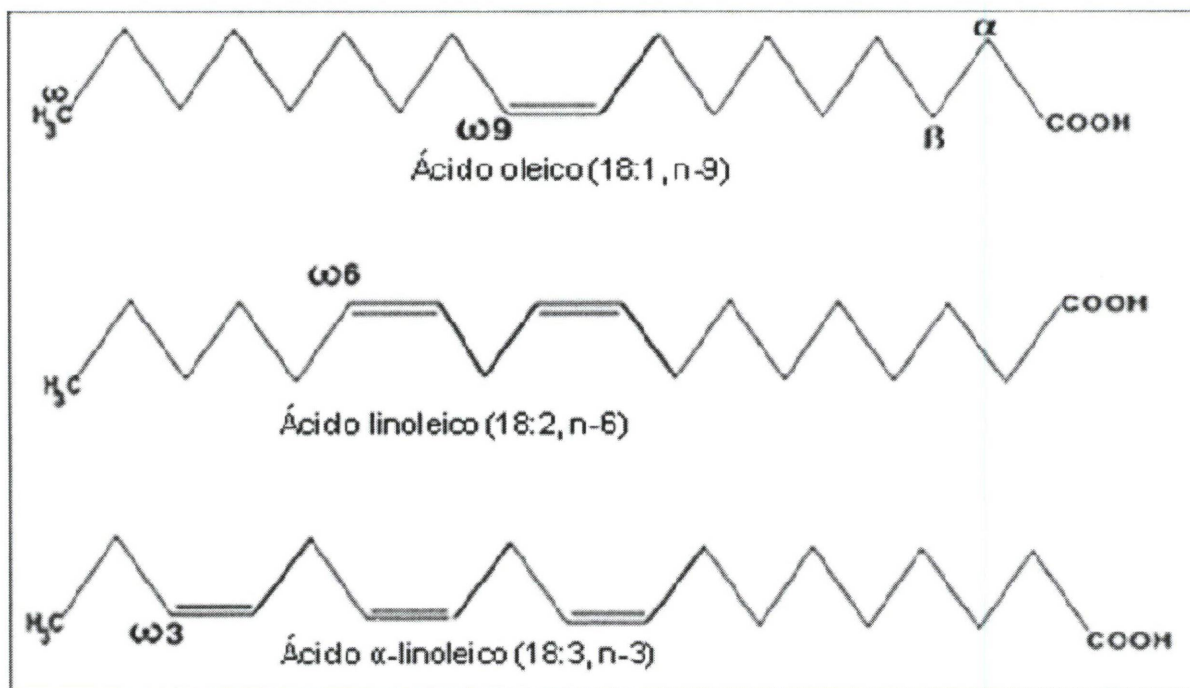


FIGURA 3: Representação esquemática das diferentes famílias de ácidos graxos. Adaptado de ROSE & CONNOLLY, 1999.

Através dos processos de alongamento e desaturação, presente no retículo endoplasmático liso, ácidos graxos como linoléico (18:2n-6) e α -linolênico (18:3n-3), adquirem novas duplas ligações e sofrem alongamento de cadeia, dando origem a vários outros ácidos graxos de cadeia longa, entre eles os ácido araquidônico (AA 20:4n-6) eicosapentaenóico (EPA 20:5n-3) e docosahexaenóico (DHA 22:6n-3) (DOMMELS et al, 2002) (FIGURA 4). O ácido araquidônico (n-6) e o ácido eicosapentaenóico (n-3) dão origem a eicosanóides através das enzimas cicloxigenase (COX) e lipoxigenase (LOX). Eicosanóides são moléculas compostas por 20 átomos de carbonos que desempenham funções específicas nas células, entre as quais, potentes sinalizadores que agem como mensageiros de curta duração e distância, afetando os tecidos circunvizinhos. Os eicosanóides são as prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanas. A enzima cicloxigenase catalisa a conversão do ácido araquidônico e do EPA em prostanóides (SANTANA, 2004; SALA-VILA; CALDER, 2008). Existem duas importantes isoformas de COX: a COX-1, que é expressa constitutivamente em muitos tecidos; e a COX-2, associada a respostas inflamatórias e induzidas por vários tipos de estímulos incluindo citocinas, promotores tumorais e fatores de crescimento (CAO *et al.*, 1996; SALA-VILA; CALDER, 2008)

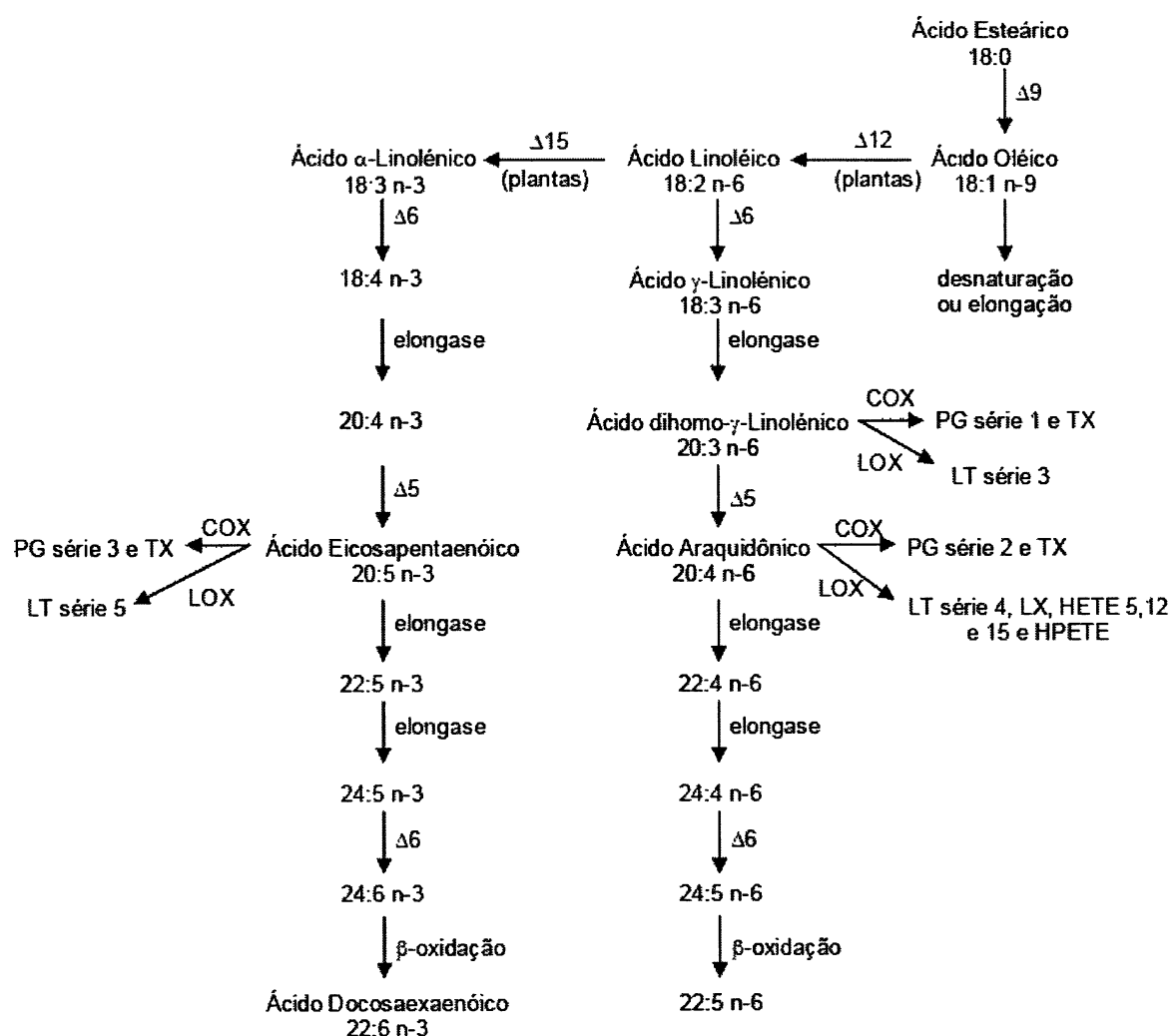


FIGURA 4: Via biossintética dos ácidos graxos poliinsaturados. Enzimas desaturases $\Delta 5$, $\Delta 6$, $\Delta 9$, $\Delta 12$ e $\Delta 15$; enzima ciclooxigenase (COX); enzima lipoxigenase (LOX); prostaglandinas (PG); leucotrienos (LT); tromboxanas (TX); lipoxina (LX); ácido hidroxieicosatetraenóico (HETE); ácidos hidroxiperoxeicosatetraenóicos (HPETE). Fonte: CALDER, 2001.

1.3.1 ÓLEO DE FÍGADO DE TUBARÃO

O óleo de fígado de tubarão é considerado um remédio antigo para os pescadores que vivem ao longo da costa oeste da Noruega e Suécia. Além do uso para o tratamento geral de debilidades, historicamente tem sido administrado em várias situações específicas, como: cicatrização de feridas, tratamento de irritações do trato gastrointestinal, respiratório e linfadenopatia (KROTKIEWSKI *et al.*, 2003). O óleo de fígado de tubarão é constituído de 30 a 50% por alquilgliceróis, gorduras

formadas por uma cadeia hidrocarbônica, saturada ou insaturada, unida por ligação do tipo éster a uma das hidroxilas do glicerol (FIGURA 5) (BROHULT *et al.*, 1977).

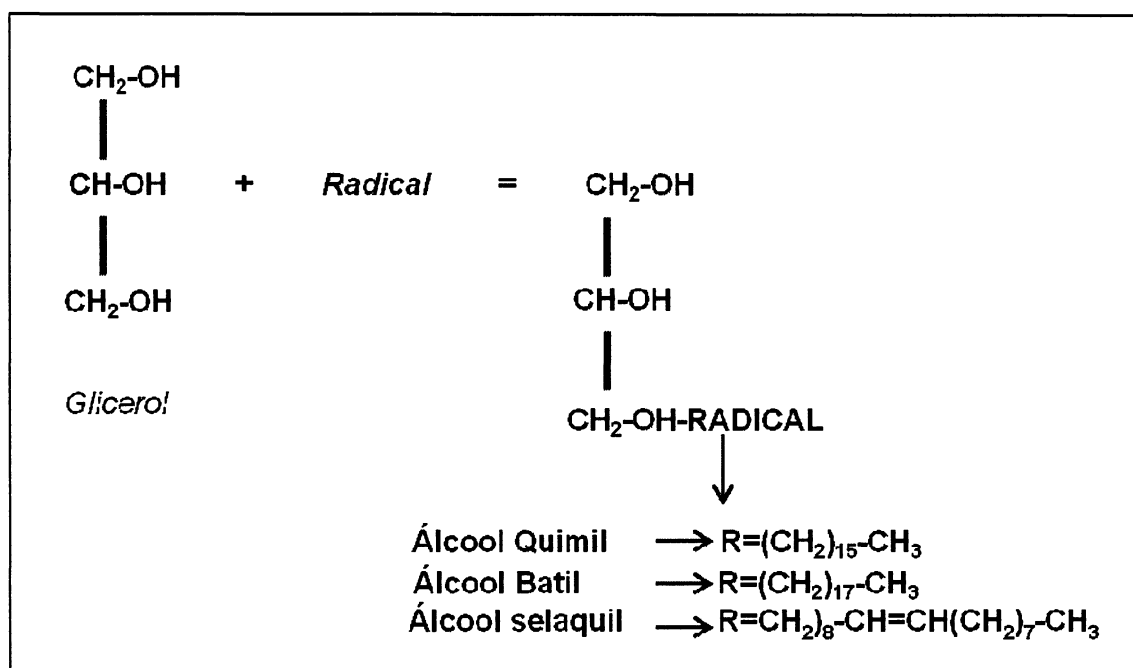


FIGURA 5: Estrutura química das moléculas de alquilglicerol mais comuns.

Esqualeno, precursor esteróide do colesterol, e esqualamina (FIGURA 6), esteróide aminado (PIETRAS *et al.*, 2005), são outras moléculas de interesse biológico encontradas no óleo de fígado de tubarão. A esqualamina, em particular, apresenta baixo peso molecular e dentre seus efeitos, destaca-se seu caráter como inibidor de angiogênese (TEICHER *et al.*, 1998; SILLS JR *et al.*, 1998; SCHILLER *et al.*, 1999; MARWICK, 2001; WILLIAMS *et al.*, 2001).

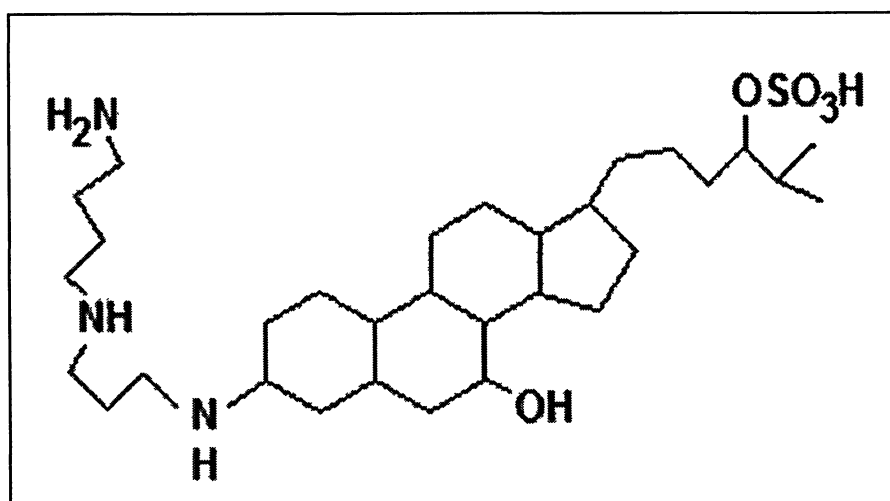


FIGURA 6: Estrutura química da molécula de esqualamina.

Uma das principais fontes de alquilgliceróis é o fígado do tubarão *Somnious microcephalus* (*greenland shark*), seguido pelas espécies *Chimaera monstrosa* (*small shark*) e *Squalus acanthias* (*dog fish*) (PUGLIESE *et al.*, 1998). Os alquilgliceróis mais comuns são denominados de alcoóis quimil, batil e selaquil, devido a suas origens das famílias de espécies marinhas *Chimaeroidei*, *Batoidei* e *Selachoidei*, respectivamente (FIGURA 5). Os alquilgliceróis podem ser encontrados em tecidos hematopoiéticos de mamíferos (medula óssea) e leite materno humano. Em fontes naturais, são encontrados na forma esterificada, ligados a ácidos graxos, principalmente poliinsaturados, unidos por ligação éster as duas hidroxilas livres do glicerol. Quando esterificadas com ácidos graxos, as moléculas de alquilglicerol são denominadas de alquildiacilgliceróis. Os alquilgliceróis também podem fazer parte da estrutura dos fosfolipídios de membrana (BROHULT, 1962) (FIGURA 7).

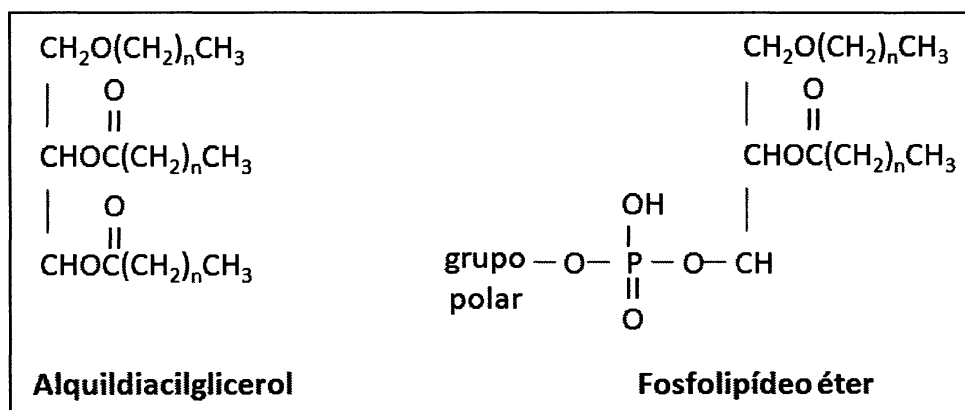


FIGURA 7: Estrutura química das moléculas que apresentam alquilglicerol em seus esqueletos carbônicos.

A presença de grupo metóxi (-OCH₃), no início da cadeia alifática em substituição ao hidrogênio (FIGURA 8) em algumas moléculas do alquilglicerol, conferem estimulação da resposta imunológica e imunomodulação, atividade antifúngica e, em culturas de células, demonstraram ter efeitos citotóxicos sobre células tumorais e redução de metástases (BROHULT *et al.*, 1986). Em fontes naturais, os alquilgliceróis são encontrados sob a forma esterificada, ou seja, ligada a ácidos graxos principalmente poliinsaturados unidos por ligações éster às duas hidroxilas livres do glicerol sendo assim denominados de alquildiacilgliceróis (BROHULT, 1962). Estudos realizados com o alquilglicerol 1-O-(2-metóxi) hexadecilglicerol revelaram sua capacidade, em pequenas concentrações (µM), em inibir a proliferação de células tumorais humanas de próstata (REYNOLDS *et al.*, 2000).

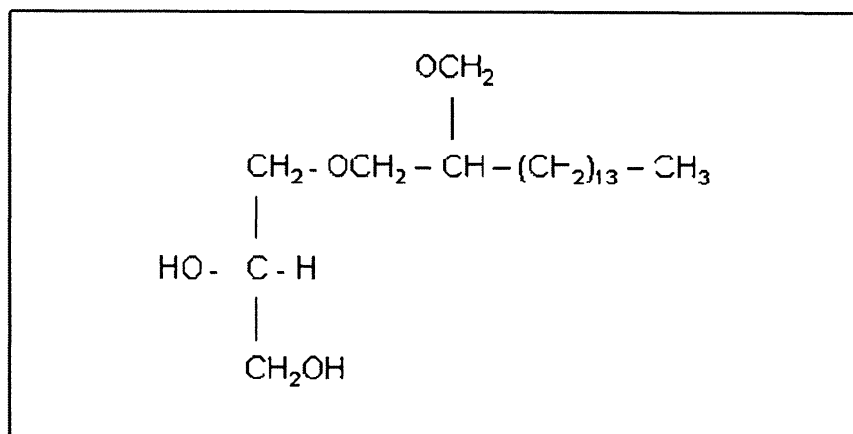


FIGURA 8: Estrutura química do 1-O-(2-metóxi)-hexadecilglicerol, um alquilglicerol metóxi substituído encontrado no óleo de fígado de tubarão.

Estudos que buscaram verificar os efeitos do alquilglicerol sobre a redução da proliferação celular em diferentes linhas de cânceres humanos, demonstraram redução significativa na colônia de células tumorais da próstata, aumento da apoptose tanto na próstata quanto ovário, e predominante necrose em carcinomas mamários (KROTKIEWSKI *et al.*, 2003). Seus efeitos também estão relacionados à prevenção de leucopenia e trombocitopenia, e a sua administração em pacientes com câncer de colo uterino resultou em taxas de sobrevivência mais altas comparando-se apenas à administração da terapia radioativa. Em experimentos realizados com suplemento oral com cápsulas (0,1g de alquilglicerol), de duas a três vezes ao dia, totalizando 0,6g ao dia antes da terapia radioativa, percebeu-se regressão do crescimento tumoral. Além disso, os efeitos colaterais decorrentes da terapia por radiação foram reduzidos pela administração de alquilgliceróis, bem como os efeitos colaterais mais complexos decorrentes dos danos provocados pela radiação combinados ao crescimento tumoral foram reduzidos em cerca de um terço (BROHULT, *et al.*, 1986).

1.6 MORTE CELULAR

Morte celular programada ou apoptose corresponde à uma série de processos celulares fisiológicos e patológicos distintos (HENGARTNER, 2000) os quais são fundamentais para a homeostase tecidual que esta relacionada ao balanço resultante entre a proliferação e morte celular (EVAN; VOUSDEN 2001). Importante avanço científico na compreensão do câncer foi à descoberta que a apoptose

desempenha papel fundamental na formação, tratamento e respostas de células tumorais (JOHNSTONE *et al.*, 2002 DEBATIN; KRAMMER, 2004). Mutações celulares podem conferir as células acentuada capacidade proliferativa comparada às células normais levando ao início do desenvolvimento do tumor, progressão e invasão de tecidos circundantes (EL-DEIRY, 2001). A relação entre ciclo celular e apoptose é reconhecida pelos genes que codificam as proteínas c-Myc, p53, pRb, Ras, PKA, PKC, Bcl-2, NF- κ B, CDK, ciclinas e CKI. As proteínas da família Bcl-2 apresentam importante função anti-apoptótica, que é regulada por multi-sítios de fosforilação envolvendo interações entre várias proteínas da família (FLEISCHER *et al.*, 2006). Concentrações elevadas de proteínas dessa família de genes bloqueiam a apoptose (Bcl-2 e Bcl-x) e outras a promovem (Bax, Bad e Bak). Os genes anti-apoptóticos da família Bcl-2 são promotores da sobrevivência celular por inibirem a ocorrência da apoptose (VERMEULEN *et al.*, 2003). A proteína Bcl-2 está localizada na membrana mitocondrial externa de diferentes tipos celulares, como epitélios capazes de proliferação e morfogênese. Dentre suas atuações está o bloqueio da liberação de citocromo-c pela mitocôndria após estímulo apoptogênico, impedindo, portanto, a ativação de caspases (SAELENS *et al.*, 2004). A proteína Bax pode produzir heterodímeros com a Bcl-2 (Bax/Bcl-2) ou homodímeros (Bax/Bax), desta forma, Bcl-2 suprime a morte celular quando heterodimerizada com Bax; por outro lado, o homodímero Bax/Bax promove apoptose. O mecanismo de controle da apoptose pelos genes da família Bcl-2 envolve a formação de poros na membrana mitocondrial, permitindo a interação de várias proteínas envolvidas na regulação da morte celular (VERMEULEN *et al.*, 2003).

Diversas vias de sinalização celular para apoptose são o resultado de uma cascata de complexos eventos biológicos. Entre esses eventos podemos destacar as caspases que compreendem uma família de proteases que contêm cisteína no sítio ativo e clivam substratos em resíduos de aspartato (NICHOLSON; THORNBERRY 1997). Caspases são sintetizadas em células saudáveis como proenzimas inativas, que podem ser ativadas rapidamente por clivagem (THORNBERRY; LAZEBNIK 1998). Atualmente são conhecidos 14 membros da família das caspases e sete deles são identificados como mediadores de apoptose. Durante o processo de apoptose as caspases são divididas em caspases de iniciação (8 e 10) e de execução (3, 6 e 7). As caspases 3, 6 e 7 são ativadas pelas caspases 8 e 10 e pela presença do citocromo c; este é liberado pela mitocôndria que interage

com adenosina trifosfato (ATP), fator ativador de apoptose 1 (apaf-1) e pró-caspase 9 que são ativadas pela formação do apoptossomo levando a apoptose (HUERTA *et al.*, 2006).

NF- κ B e Câncer

NF- κ B é um fator de transcrição que regula a expressão de vários genes, sendo associado com processos inflamatórios, apoptose, adesão, diferenciação e crescimento celular (CHAWLA-SARKAR *et al.*, 2003). Não é um único fator de transcrição e sim uma família de fatores relacionados que incluem cinco genes: NF- κ B1 (p50/p105), NF- κ B2 (p52/p100), RelA (p65), c-Rel e RelB (FIGURA 9). Estas proteínas têm em comum um domínio homólogo Rel que promove ligação ao DNA, dimerização e interação com fatores de inibição específicos, os chamados I κ B, que fazem com que os dímeros de NF- κ B permaneçam no citoplasma (KARIN; BENNERIAH, 2000).

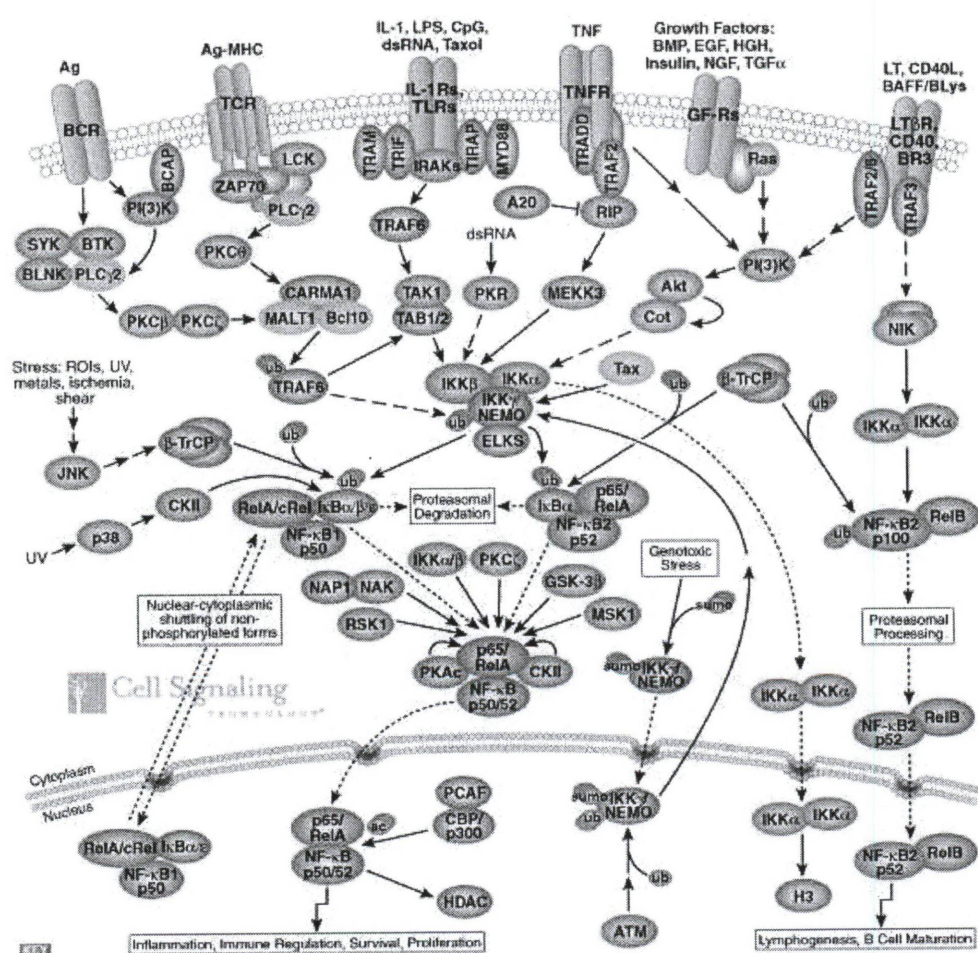


FIGURA 9: Via de sinalização do fator nuclear kappa B (NF- κ B)

A ativação do NF- κ B é resultado de diferentes vias de sinalização como citocinas, fatores de crescimento e proteínas tirosina kinase (BONIZZI; KARIN, 2004). Muitos estímulos são capazes de ativar o NF- κ B,, principalmente através da ativação da quinase IKK responsável por promover a fosforilação de I κ B e sua posterior degradação no Proteossoma. O NF- κ B, uma vez, liberado segue para o núcleo onde regula a transcrição de diversos genes para citocinas, fatores de crescimento, moléculas de adesão celular e proteínas pró- e anti-apoptóticas. (ESCARCEGA *et al.*, 2007). O NF- κ B é conhecido por inibir a apoptose através da indução de proteínas anti-apoptóticas e/ou supressão de genes pró-apoptóticos. Em células tumorais diferentes alterações moleculares podem contribuir para alterações na funcionalidade do NF- κ B. A ativação constitutiva de NF- κ B, observada em muitos tumores malignos, protege as células de estímulos apoptóticos, incluindo os tratamentos anticâncer (DOLCET *et al.*, 2005).

ERK e Câncer

Pesquisas demonstram que alterações na expressão de proteínas envolvendo vias de sinalização podem estar associadas ao desenvolvimento de algumas doenças como por exemplo o câncer (CALVO *et al.*, 2010). A via de sinalização das proteínas Ras/Raf/MEK/ERK chamam a atenção por regular grande número de proteínas envolvidas no controle da proliferação celular, diferenciação e apoptose (FIGURA 10). A expressão aumentada da proteína Ras está constitutivamente ativa em aproximadamente 30% dos casos de câncer. Se considerarmos ainda alterações em vias de sinalização associadas à Ras como a fosforilação da proteína ERK (pERK 1/2) este número pode chegar a aproximadamente 50% dos casos (ROBERTS, 2007). Estudos utilizando recursos genéticos e farmacológicos de modulação da via de sinalização Ras-ERK demonstraram que estas vias de sinalização, quando alteradas, promovem a manutenção do fenótipo alterado de células tumorais em modelos animais e *in vitro* (KARNOUB; WEINBERG, 2008; KARRETH; TUVESON, 2009)

Em condição de repouso a ERK é encontrada no citoplasma ancorada em proteínas citoplasmáticas. Quando fosforilada, perde afinidade por essas proteínas e direcionam-se para o núcleo alterando os processos de replicação, transcrição e síntese de proteínas (PAROO *et al.*, 2009). Esta via de sinalização atua também na

progressão do ciclo celular por induzir a expressão das ciclinas D e E, promover a fosforilação e indução da degradação do inibidor do ciclo celular (inibidor de CDK) p27^{kip}, além de regular a motilidade celular, remodelação de matriz extracelular e a produção de fatores angiogênicos como o fator de crescimento de endotélio e vasos (VEGF) (GONZALEZ *et al.*, 2008). Gioli (2005) demonstrou que no câncer de próstata a maior expressão da via de sinalização Ras/ERK está associada à progressão da doença, metástase e resistência ao tratamento. A inibição desta via sinaliza para as células tumorais menor proliferação celular e apoptose.

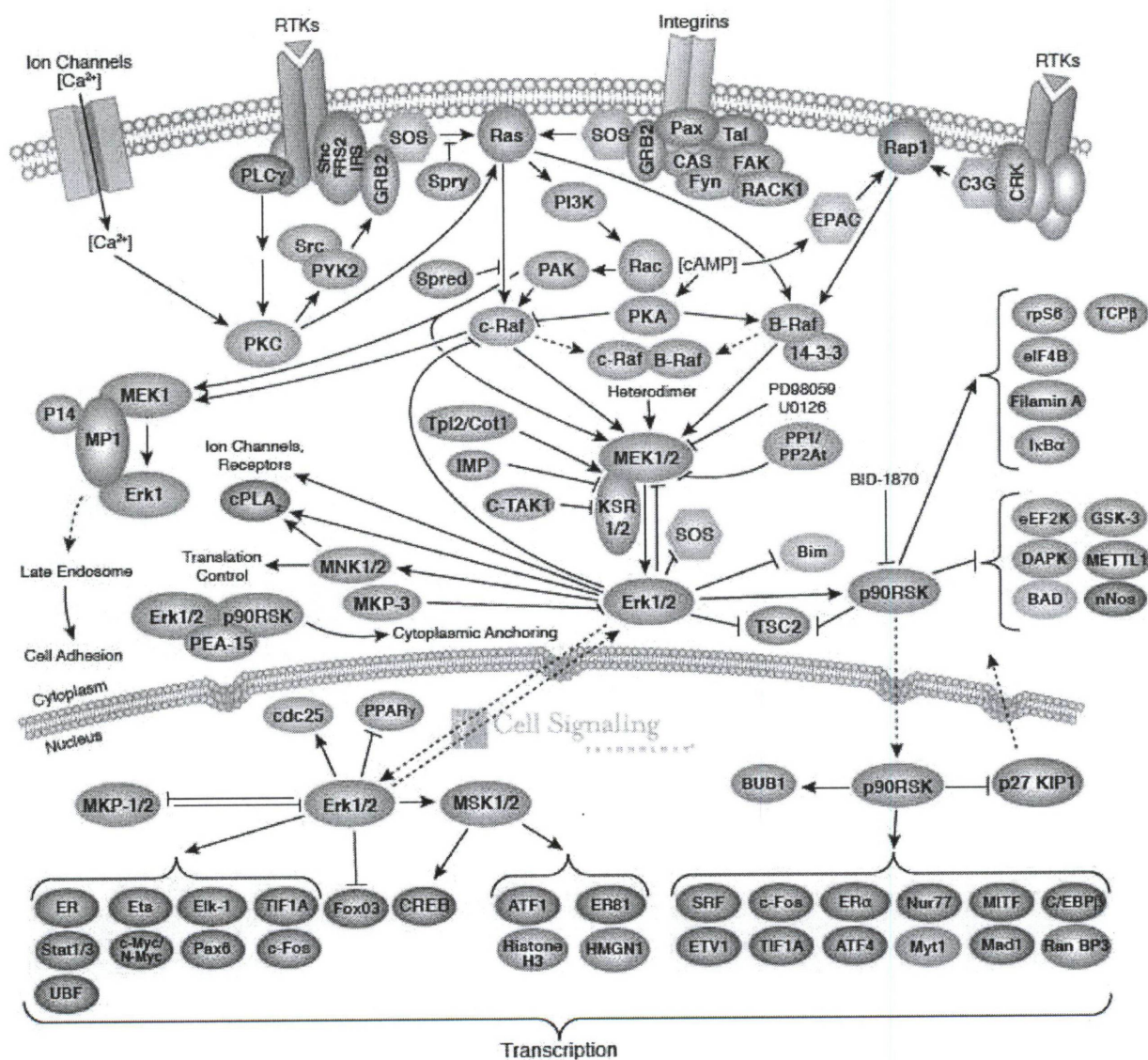


FIGURA 10: Via de sinalização da MAPK/ERK crescimento e diferenciação celular.

2. JUSTIFICATIVA

A síndrome da caquexia e o crescimento tumoral são os principais contribuintes para a morbidade e mortalidade dos pacientes com malignância avançada. Cerca de dois terços dos pacientes terminais de câncer apresentam essa síndrome, que se caracteriza pela perda severa de peso (tecido adiposo e massa muscular), fadiga, anorexia, saciedade precoce, sarcopenia, anemia e edema. Essas características são acompanhadas por mudanças no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios (FEARON *et al.*, 2006). Desta forma, intervenções para preservar a massa muscular têm importantes implicações clínicas e valor funcional em termos de melhorar o prognóstico e a qualidade de vida dos pacientes com câncer (DUIJTS *et al.*, 2011; KIM *et al.*, 2009; HAYES, 2009; COURNEYA *et al.*, 2007). Entre as várias intervenções, o suporte dietético e o exercício físico têm sido cogitados e demonstram ter efeitos anti-tumorais e anti-caquéticos. Ainda, tais efeitos quando demonstrados nunca foram acompanhados de investigação dos possíveis mecanismos intracelulares envolvidos.

3. OBJETIVOS

Vários estudos demonstram que o exercício físico tem a capacidade de promover efeitos benéficos no câncer e que o óleo de fígado de tubarão tem a habilidade de reduzir a proliferação de células tumorais. Uma vez que o exercício físico e o óleo de fígado de tubarão atuam sobre o desenvolvimento tumoral, o objetivo deste estudo foi investigar o efeito do exercício físico associado à suplementação com óleo de fígado de tubarão sobre parâmetros bioquímicos de caquexia e vias intracelulares envolvidas no crescimento tumoral, considerando a análise dos seguintes parâmetros:

- Massa do tumor e massa corpórea dos animais;
- Proliferação das células tumorais *ex vivo* pela incorporação de [2-¹⁴C]-timidina no DNA;
- Glicemia, lactatemia e triacilglicerolemia;
- Apoptose e necrose das células do tumor de Wlaker-256 por citometria de fluxo;
- Lipoperoxidação de células tumorais;
- Expressão de proteínas Bax, Bcl-2, NF-κB (p65, p52, IκB-α) e β-Actina
- Fosforilação da proteína pERK 1/2.

4. MATERIAS E MÉTODOS

4.1 MODELO EXPERIMENTAL E PROCEDIMENTOS

4.1.1 ANIMAIS

Para realização deste estudo foram utilizados 240 ratos da linhagem Wistar (70 dias), obtidos do Biotério do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Metabolismo Celular do Departamento de Fisiologia do Setor de Ciências Biológicas da UFPR. Todo o procedimento experimental foi aprovado pelo comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) do Setor de Ciências Biológicas, número 293.

4.1.2 MODELO EXPERIMENTAL

Os animais foram mantidos em ciclo invertido claro/escuro (12/12 horas), com temperatura controlada de $23\pm 1^{\circ}\text{C}$, com livre acesso à água e comida, sendo divididos aleatoriamente em 8 grupos: Sedentário (S), Sedentário suplementado com óleo de fígado de tubarão (SA), Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (SWA), Exercitado (EX), Exercitado suplementado com óleo de fígado de tubarão (EXA), Exercitado com tumor (EXW), Exercitado com tumor e suplementado com óleo de fígado de tubarão (EXWA). Na sexta semana de treinamento 1mL de suspensão contendo 3×10^7 células do tumor de Walker 256 foram inoculadas no flanco direito dos animais, identificados pela letra W como portadores do tumor. Após 15 dias da inoculação, coincidindo com a oitava semana de treinamento, os animais foram ortonasiados.

4.1.3 SUPLEMENTAÇÃO COM ÓLEO DE FÍGADO DE TUBARÃO

Os grupos suplementados com óleo de fígado de tubarão, identificados pela letra A, receberam 1g/kg massa corpórea de óleo de fígado de tubarão, obtido de

uma preparação de lipídeos obtidos do fígado de tubarão (cápsulas de 250g de Ecomer IMUNI SHARK®), através de micropipeta durante 8 semanas.

4.1.4 MASSA CORPÓREA E DO TUMOR

A massa dos animais foi monitorado duas vezes por semana no período da manhã, sempre antes do treinamento, utilizando-se balança Urano. Após a ortotanasia, o tumor foi retirado e pesado em balança digital (Denver XL-4-1).

4.1.5 PROTOCOLO DE TREINAMENTO

Após período de adaptação ao meio aquático (30 minutos de natação por dia durante 2 dias sem utilização de carga), os animais dos grupos exercitados, identificados por EX, realizaram um programa de treinamento físico, constituído de 6 séries de saltos e 30 minutos de natação em tanque individual com água, temperatura constante de $32\pm 2^{\circ}\text{C}$. O treinamento de saltos foi constituído de 6 séries de saltos com 1 minuto de intervalo e sobrecarga de 50% da massa corporal (ajustada semanalmente), fixadas ao tórax. Cinco minutos após o término do treinamento de saltos os mesmos grupos exercitados foram submetidos ao protocolo de treinamento de natação, o qual é constituído de 30 minutos de natação com uma carga equivalente a 6% da massa corpóreo do animal (ajustada semanalmente), presa ao tórax. Foram realizadas 4 sessões semanais de treinamento, com descanso nas quartas-feiras e fins de semana, durante o período de 8 semanas. Após a inoculação das células tumorais, na sexta semana de treinamento não houve aumento da carga e o treinamento continuo por mais duas semanas, coincidindo com o décimo quinto dia de inoculação do tumor.

4.1.6 ORTOTANÁSIA DOS ANIMAIS

Após a oitava semana de treinamento coincidindo com o décimo quinto dia de inoculação do tumor, foi realizada a ortotanasia dos animais com o auxílio de guilhotina. Este método foi utilizado para facilitar a retirada do volume necessário de sangue para as análises séricas.

4.2 METODOLOGIA PARA OS ENSAIOS DO TUMOR DE WALKER-256

4.2.1 OBTENÇÃO E TRANSPLANTE DAS CÉLULAS DE TUMOR DE WALKER-256

Uma suspensão de 3×10^7 células de tumor de Walker-256, em 1mL, foram injetadas intraperitonealmente em um rato da linhagem Wistar. Após um período de aproximadamente 5 dias, quando constatada ascite, o animal foi ortotanasiado e 10mL de solução salina 0,9% foi injetada em sua cavidade abdominal. Seu abdômen foi massageado e, por meio de laparotomia mediana foi retirado da cavidade abdominal o fluido contendo as células tumorais, com auxílio de pipeta tipo Pasteur de plástico esterilizada. As células tumorais obtidas foram contadas em câmara de Neubauer, após serem coradas com azul de trypan, 10g/L em solução salina 0,9% (NaCl 154mM).

4.3 ANÁLISES PLASMÁTICAS

4.3.1 MENSURAÇÃO DA GLICEMIA

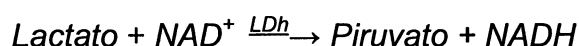
A glicose foi quantificada por método colorimétrico, utilizando-se sistema comercial Glicose E enzimática da Labtest. Os ensaios foram realizados segundo as instruções do fabricante.

4.3.2 MENSURAÇÃO DO LACTATO

Foi mensurado pelo método enzimático, segundo Engle;Jones (1978). Inicialmente foi feito a desproteínização do soro, pela adição de 50 μ L de ácido tricloroacético (TCA a 25%) a 0,5 mL da amostra e a mistura foi agitada em vórtex, centrifugada por 1 minuto a 13.000 rpm em centrífuga Eppendorf modelo 5810R. Em seguida, foi coletado 200 μ L do sobrenadante e adicionou-se 4 μ L 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. Deste volume neutralizado pipetou-se 100 μ L em tubos de ensaio contendo 1 mL do

tampão do ensaio (descrito abaixo) e, após 45 minutos, foi feita leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 340 nm (Pharmacia 4300 Pro).

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 calculou-se a concentração do lactato sérico em $\mu\text{mol/mL}$, pela fórmula:

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

[Lactato] = concentração de lactato produzida

Abs = Absorbância

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

4.4 PROLIFERAÇÃO CELULAR

Uma vez isoladas as células do tumor de Walker-256, estas foram cultivadas em meio de cultura RPMI-1640 enriquecido com 10% de soro fetal bovino e antibióticos (penicilina 10.000U e estreptomicina 10 mg/L) contendo inicialmente 1×10^5 células por poço, em placas de 96 poços (volume 200 μ L), a 37°C em atmosfera com 5% CO₂. Este método foi descrito por HUANG et al, 2000. Concomitantemente ao plaqueamento das células tumorais, foi adicionado 20 μ L de uma solução contendo (2-¹⁴C)-timidina (0,02 μ Ci/poço). As células foram cultivadas por 24 horas. A timidina é análoga da base púrica timina que se incorpora aos novos DNAs formados durante a proliferação. Após este período, as células 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 tubos contendo 1 mL de líquido de cintilação e levados para contagem da radioatividade em contador Beckman LS 6000.

4.5 APOPTOSE E NECROSE EM CÉLULAS TUMORAIS

Este processo foi realizado conforme descrito por Amarantes-Mendes (1997), onde células tumorais (5×10^5 células/poço) foram ressuspensas em tampão contendo anexina V marcada com o fluorocromo fluoresceína (FITC) e mantidas protegidas da luz, em geladeira, por 24 horas. A anexina V é marcador de apoptose, pois se liga ao fosfolípido fosfatidilserina, externalizado da membrana interna para a membrana externa plasmática, durante o início do processo de apoptose. A fluorescência celular foi avaliada por citometria de fluxo (FACS - *fluorescence activated cell sorter*), pela fluorescência da anexina V por célula (absorbância de 488 nm e emissão acima de 530 nm – canal FL1). Os dados foram expressos em porcentagem de fluorescência. Para determinação da necrose utilizou-se o intercalante de DNA, 7-amino-actinomicin D (7-AAD).

4.6 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

A peroxidação lipídica foi mensurada pelo método descrito por NOUROOZ-ZADEH et al. (1994). Este método quantifica a formação de hidroperóxido por miligrama de proteína durante a peroxidação lipídica. Baseia-se no princípio de que hidroperóxidos oxidam ferro a íon férrico e, por sua vez, este íon liga-se ao corante xilenol laranja.

Duzentos gramas de amostra de tumor de Walker 256 foram homogeneizados em 1mL de metanol e centrifugados a 5.000g por 5 minutos a 4°C. Para cada amostra, alíquotas de 90 µL do sobrenadante foram postas em 6 tubos de centrífuga (1,5 mL de capacidade). Três destes tubos foram adicionados 10 µL de solução metanólica de TPP (trifenilfosfina) a 10 mM, para haver a redução seletiva de hidroperóxidos. As amostras contidas nos três tubos restantes receberam apenas 10 µL de metanol. Todos os tubos foram agitados e então incubados em temperatura ambiente por 30 minutos. Terminada esta incubação, adicionou-se a cada tubo 900 µL do reagente FOX2 (xilenol laranja a 100 µM, hidroxitolueno butilado a 400 mM, ácido sulfúrico a 250 mM e sulfato ferroso de amônia em metanol 90%). Após agitação, o meio reacional foi incubado em temperatura ambiente por mais 30 minutos. A leitura foi realizada em espectrofotômetro na absorvância de 560 nm.

Para a determinação da concentração de hidroperóxidos nas amostras, subtraiu-se o valor da absorvância das amostras tratadas com TPP do valor da absorvância das amostras sem TPP. O valor obtido foi, então, interpolado na curva padrão de peróxido de hidrogênio, a qual foi obtida com soluções padrão de peróxido de hidrogênio, de diferentes concentrações (100.0, 50.0, 25.0, 12.5, 6.2, 3.1 e 1.6 µM) submetidas aos mesmos procedimentos descritos acima para a dosagem de hidroperóxidos (com exceção ao tratamento com TPP). Dividiu-se o valor da concentração de hidroperóxidos (nmol/mL) pela concentração de proteínas (mg/mL), obtendo-se assim o valor de hidroperóxidos por quantidade de proteínas no sobrenadante do extrato (nmol de hidroperóxidos/mg de proteínas).

4.7 DETERMINAÇÃO DA QUANTIFICAÇÃO PROTÉICA PARA PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

Amostras de 200 mg de tumor foram homogeneizadas em metanol na proporção de 1:5 com auxílio de homogeneizador de tecidos, centrifugadas por 5 minutos a 5.000g e o sobrenadante coletado para quantificação protéica.

A quantificação de proteína foi realizada pelo método de Bradford (1976), que utiliza o corante Coomassie Blue G 250 que se liga à proteína resultando em coloração azul, calculada com base em curva padrão de proteína conhecida. Foram plaqueados 250 µL de solução de Bradford e 10 µL de cada um dos padrões ou das amostras (4 réplicas) em placas de 96 poços, sendo a leitura realizado no leitor de microplacas (Bio-Rad Microplate Reader – Benchmark) a 595 nm.

4.7.1 ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA COM DODECIL SULFATO DE SÓDIO – (SDS-PAGE)

O método "SDS-PAGE" descrito por Laemmli em 1970 foi desenvolvido para que esta migração dependa unicamente do tamanho da proteína. O SDS (dodecil sulfato de sódio) é um poderoso detergente carregado negativamente que se liga a regiões hidrofóbicas das proteínas. O complexo formado SDS-proteína distribui carga negativa semelhante entre todas as proteínas, que migrarão ao pólo positivo do campo elétrico.

O gel de empilhamento foi preparado a 4%, permitindo que todas as proteínas migrem com a mesma velocidade no início da corrida. Chegando ao gel de separação, as proteínas começam a migrar de acordo com seus tamanhos. A concentração de poliacrilamida do gel de separação foi de 15%.

As amostras foram submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida em "SDS-PAGE" por cerca de 2 horas (200 V, 400 mA). Esta separação das proteínas é importante para a posterior identificação das proteínas pelo uso de anticorpos ("Western Blotting").

4.7.2 “WESTERN BLOTTING”

O método de "Western blotting" surgiu em 1979, descrito por Towbin. Após a separação das proteínas em SDS-PAGE, elas foram transferidas para membrana de nitrocelulose. Esta membrana foi submetida à incubação com tampão de bloqueio, contendo leite em pó desnatado, para bloqueio de ligação inespecífica, durante duas horas. Após este período, a membrana foi incubada em tampão de contendo o anticorpo primário contra a proteína-alvo (pERK-1/2, Bax, Bcl-2, p65, p52 e I κ B- α). Para visualização da interação proteína-anticorpo foi, então, utilizado anticorpo secundário contra o anticorpo primário, sendo aquele complexado com enzima HRP ("horseradish peroxidase"). Pela adição de substrato quimioluminescente, pode-se observar em filme Kodak para radiografia as bandas correspondentes às proteínas pERK-1/2, Bax, Bcl-2, NF- κ B (p65, p52, I κ B- α). Essas bandas foram analisadas por densitometria através do programa "ImageJ".

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos como média \pm e.p.m. e submetidos à análise de multivariância ANOVA com pós-teste de Bonferroni com significância para $p < 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE CAQUEXIA

5.1.1 Glicemia (mg/dL), Lactatemia (mmol/L) e Triacilglicerolemia (mg/dL)

No grupo exercitado (EX), suplementado com óleo de fígado de tubarão (SA) e ambas as intervenções associadas (EXA), nos indivíduos sem tumor, não houve alteração da glicemia, lactatemia e triacilglicerolemia ($p < 0,05$). O desenvolvimento tumoral induziu a hipoglicemia (mg/dL), hiperlactatemia (mmol/L) e hipertriacilglicerolemia (mg/dL) no grupo portador de tumor SW quando comparado ao grupo sedentário (S) ($p < 0,05$). A suplementação com óleo de fígado de tubarão (SWA) aumentou a glicemia, diminuiu a lactatemia e triacilglicerolemia quando comparado ao grupo SW ($p < 0,05$), contudo ainda ficou abaixo do seu controle sem tumor ($p < 0,05$ vs. SA). O exercício físico (EXW) e a associação do exercício físico com a suplementação com óleo de fígado de tubarão (EXWA) aumentaram a glicemia, diminuíram a lactatemia e triacilglicerolemia comparada ao grupo SW ($p < 0,05$), sendo similar a de seus pares sem tumor ($p > 0,05$ vs. EX e EXWA).

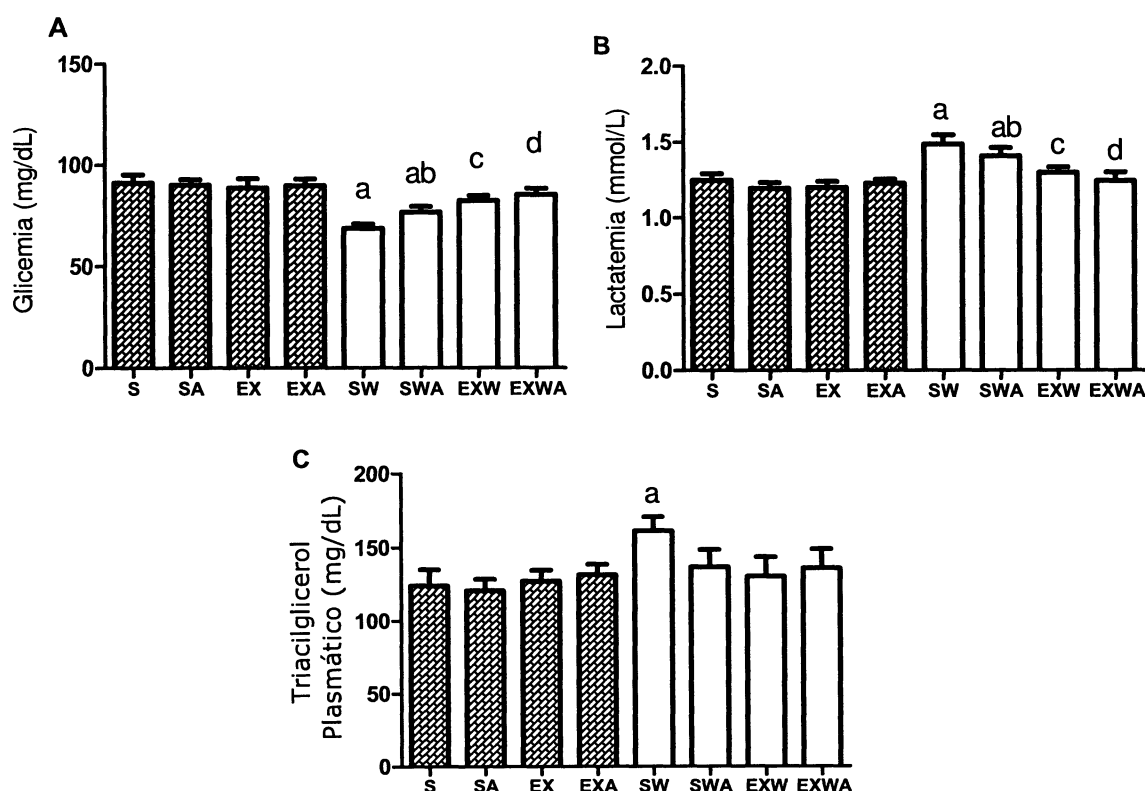


FIGURA 11: Glicemia (mg/dL) (A), Lactatemia (mmol/L) (B) e Triacilglicerolemia (mg/dL) (C) dos grupos Sedentário (S), Sedentário suplementado com óleo de

fígado de tubarão (SA), Exercitado (EX), Exercitado suplementado com óleo de fígado de tubarão (EXA) Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (SWA), Exercitado portador de tumor (EXW) e Exercitado portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (EXWA).

Os dados estão apresentados como média \pm EPM de 15 animais por grupo.

^ap<0,05 quando comparado ao grupo S; ^bp<0,05 quando comparado ao grupo SA; ^cp<0,05 quando comparado ao grupo SW; ^dp<0,05 quando comparado ao grupo SWA; ^ep<0,05 quando comparado a todos os grupos

Tabela 1: Parâmetros Bioquímicos de Caquexia.

	S	SA	EX	EXA	SW	SWA	EXW	EXWA
Glicemia (mg/dL)	90.94 \pm 4.30	90.05 \pm 2.72	88.74 \pm 4.48	89.71 \pm 3.33	68.67 \pm 2.12 ^a	76.73 \pm 2.82 ^{ab}	82.27 \pm 2.64 ^c	85.42 \pm 2.92 ^d
Lactatemia (mmol/L)	1.25 \pm 0.045	1.19 \pm 0.039	1.20 \pm 0.039	1.23 \pm 0.029	1.50 \pm 0.061 ^a	1.41 \pm 0.055 ^{ab}	1.30 \pm 0.036 ^c	1.25 \pm 0.057 ^d
Triacilglicerolemia (mmol/L)	124.1 \pm 11.03	120.8 \pm 7.86	127.1 \pm 7.70	131.5 \pm 7.01	161.4 \pm 9.43 ^e	136.6 \pm 11.78	130.4 \pm 13.24	136.1 \pm 13.02

5.1.2 Massa corpórea antes e após implantação do tumor

O ganho de massa corpórea no grupo controle (S) ao final de 15 dias foi de 12 gramas. No grupo sedentário suplementado com óleo de fígado de tubarão o ganho de massa foi semelhante ao do controle ($p > 0,05$ vs. S). O exercício físico também provocou ganho de massa no grupo sem tumor (EX), mas este foi aproximadamente 50% do grupo S ($p < 0,05$). O mesmo aconteceu quando foi associado à suplementação com óleo de fígado de tubarão (EXA) levando ao mesmo ganho de massa ($p < 0,05$ vs. S). A maior perda de massa corporal foi observada no grupo sedentário portador de tumor (SW), aproximadamente 11g em 15 dias após a inoculação das células tumorais ($p < 0,05$ vs. S). Todos os grupos perderam massa corporal (-4,5g), mas em menor intensidade quando comparados com o grupo SW ($p < 0,05$) e aos seus respectivos pares sem tumor ($p < 0,05$)

TABELA 2: Massa corpórea dos indivíduos antes e 15 dias após a inoculação do tumor, peso dos tumores ao final de 15 dias e variação de massa no mesmo período.

	Massa (g) no dia da inoculação do tumor	Massa (g) 15 dias após a inoculação do tumor	Ganho de massa(g) bruto 15 dias após a inoculação	Massa (g) do tumor 15 dias após inoculação	Ganho de massa (g) real 15 dias após Inoculação do tumor
S	351,9 ±6,81	364,3 ±7,22	12,37 ± 2,00	-	12,37 ± 2,00
SA	337,2 ± 8,23	349,8 ± 8,58	12,60 ± 2,10	-	12,60 ± 2,10
EX	328,2 ± 6,10	333,4 ± 6,41	5,20 ±1,13	-	5,20 ± 1,13
EXA	337,3 ±7,80	342,3 ± 8,10	5,00 ±1,23	-	5,00 ± 1,23
SW	352,5 ± 9,02	366,1 ±10,38	11,59 ±1,80	23,01 ±1,47	- 11,42 ± 2,17 ^a
SWA	360,6 ±7,04	375,0 ± 7,45	14,48 ±1,54	18,74 ±1,27	- 4,26 ± 2,41 ^{bc}
EXW	328,8 ± 5,70	341,3 ± 6,37	12,58 ±1,22	17,04 ± 1,03	- 4,46 ± 1,85 ^c
EXWA	319,8 ± 7,35	329,8 ±7,40	9,94 ±1,60	14,35 ±1,12	- 4,41 ± 2,00

^ap<0,05 quando comparado ao grupo S; ^bp<0,05 quando comparado ao grupo SA;

^cp<0,05 quando comparado ao grupo SW.

O exercício físico, a suplementação com óleo de fígado de tubarão e a associação de ambos, foram capazes de atenuar algumas mudanças metabólicas decorrentes da instalação da síndrome da caquexia (FIGURAS 11). O estabelecimento bioquímico da caquexia é caracterizado pela presença de hipoglicemia, hiperlaticidemia, hipertriacilglicerolemia, redução do conteúdo de glicogênio e acentuada perda de peso (PINTO et al., 2004). Tumores sólidos têm como característica, pobre provisão de sangue, conseqüentemente isto leva a grande produção de lactato e alto consumo de glicose, a qual se torna o substrato metabólico predominante (FOLADOR et al., 2006). O lactato produzido é utilizado pelo fígado como precursor para a gliconeogênese, sintetizando glicose, que será utilizada tanto pelo tumor quanto pelo hospedeiro (YONES & NOGUCHI, 2000). Todas estas características, exceto o conteúdo de glicogênio, não analisado neste trabalho, foram encontrados nos ratos portadores de tumor não submetidos ao treinamento ou a suplementação com óleo de fígado de tubarão (FIGURAS 11). Outro componente importante relacionado à instalação da caquexia é a pronunciada perda de peso. A maior perda de peso observada foi no grupo sedentário portador

de tumor (SW) quando comparada à dos demais grupos SWA, EXW e EXWA (TABELA 2), porém todos os grupos portadores de tumor tiveram perda de peso.

A síndrome da caquexia está entre os aspectos mais debilitantes do indivíduo com câncer. Associada com anorexia, perda de tecido muscular e adiposo, angústia psicológica e baixa qualidade de vida, a caquexia surge da interação complexa entre o câncer e o portador (FEARON *et al.*, 2006).

O exercício físico prescrito de forma adequada se torna boa alternativa de tratamento contra o câncer, este é capaz de estimular alguns mediadores anabólicos, como testosterona e hormônio do crescimento e inibir mediadores catabólicos como cortisol, melhorando o estado de pacientes caquéticos, com relação à manutenção da sua massa muscular (BACURAU *et al.*, 2007). A contração muscular pode modular diversas vias de sinalização intramuscular específicas que aumentam a massa muscular, concentração de proteínas do citoesqueleto e conseqüentemente gera maior força contrátil (BAAR; ESSER, 1999).

O exercício físico promove mudanças importantes no metabolismo das células tumorais que auxiliam na redução da proliferação do tumor, pois parece comprometer seu metabolismo de glicose e glutamina (BACURAU, *et.al.*; 2007), assim como, reduz a concentração de insulina, estradiol, testosterona livre, IGF-1 e aumenta a concentração de proteína ligadora de IGF-1 (IGFBP-1), responsável pela inibição da atividade de IGF-1 (NGO, *et.al.*; 2003). O aumento da concentração de IGF-1 na circulação está associada com aumento da capacidade proliferativa de células tumorais e diminuição da número de células em apoptose (YU, ROHAN, 2000).

O exercício físico (EXW) e a associação do exercício físico com a suplementação com óleo de fígado de tubarão (EXWA) foram capazes de reduzir o crescimento tumoral (FIGURA 12), quando comparado ao grupo sedentário portador de tumor (SW) ($p < 0,05$), este menor crescimento do tumor parece estar relacionadas com as mudanças metabólicas, pois o tumor de Walker 256 é ávido consumidor de glicose e produtor de lactato. Observou-se redução significativa da concentração de lactato nos ratos exercitados e aumento da glicemia (FIGURA 11). O exercício promove melhora na eficiência metabólica devido a mudanças na característica das fibras musculares esqueléticas e conseqüentemente menor produção de lactato, diminuindo a fadiga (LUCÍA *et.al.*; 2003).

O treinamento de força é caracterizado por exercícios resistidos onde o indivíduo realiza movimentos musculares contra uma força de oposição, como por exemplo, os exercícios com pesos (ACSM, 2002). Já o treinamento de endurance ou aeróbico consiste na realização de exercícios que, predominantemente, necessitam do oxigênio para a produção de energia, tais como corrida, ciclismo e natação. Estes exercícios são fundamentais para melhorar as capacidades pulmonar e cardiovascular (TAYLOR, et al. 2004). Os efeitos fisiológicos proporcionados pelo treinamento de força são diferentes das adaptações provocadas pelo treinamento aeróbico. O treinamento de força aumenta a síntese protéica, resultando em aumento de proteínas contráteis, hipertrofia muscular (HASTEN *et al.*, 2000; KADI *et al.*, 2004; KATSANOS *et al.*, 2006), aumento da atividade das enzimas oxidativas musculares, elevação no número e tamanho, de mitocôndrias, vascularização e $VO_2máx$ (SHORT *et al.*, 2004). O treinamento aeróbico eleva tanto o número de capilares por fibra quanto o número de capilares da área transversa do músculo exercitado, conseqüentemente, aumenta as trocas gasosas e a utilização de substratos pelo tecido muscular (FERRARA *et al.*, 2006). Johnson *et al.*, (2009) demonstraram a influência positiva da associação do treinamento de força e aeróbico na redução do tecido adiposo e aumento do metabolismo basal. Em estudo realizado com atletas de “endurance”, Paavolainen et al. (1999) observaram melhora na performance em provas de 5 km após adicionarem, ao treinamento de “endurance”, sessões de treinamentos de força. Acredita-se que esta melhora se deve aos treinos de força resultar em adaptações neuromusculares mais significativas que os treino de “endurance” isolado. Houve melhor solicitação e recrutamento das fibras musculares, bem como aumento nos impulsos excitatórios em relação aos inibitórios, promovendo assim aumento no desempenho durante a corrida, sem que fosse apresentada qualquer adaptação em relação à hipertrofia, limitando esse aumento às adaptações neurais. Millet et al. (2002) observaram economia do esforço nas provas de triatletas analisados, quando submetidos a um protocolo de treinamento de força. Neste estudo, foi possível verificar que os atletas que incluíram o treinamento de força em sua rotina conseguiram reduzir o gasto de energia, aumentaram massa muscular dos membros inferiores, além de maximizar o processo de contração da musculatura diretamente solicitada durante a corrida, melhorando assim a “performance”. Em estudo realizado por Milne et al. (2007), pacientes com câncer de mama em período de tratamento foram submetidos a um

protocolo de treinamento, composto de exercícios aeróbicos e exercícios de força, durante 12 semanas. Nos grupos treinados observaram-se menores níveis de fadiga e ansiedade, melhora da condição aeróbica, força muscular e qualidade de vida dos pacientes

5.2 PARÂMETROS RELATIVOS AO TUMOR DE WALKER 256

5.2.1 Massa dos tumores

Quinze dias após a inoculação do tumor, a massa tumoral teve maior desenvolvimento no grupo sedentário portador de tumor (SW $23,01 \pm 1,47$ g), sendo significativamente maior ($p < 0,05$) comparada à dos demais grupos SWA e EXW. A suplementação com óleo de fígado de tubarão (SWA) diminuiu o crescimento tumoral ($18,47 \pm 1,27$ g) , assim como o exercício físico (EXW $17,04 \pm 1,03$ g). A associação do exercício físico com a suplementação com óleo de fígado de tubarão (EXWA) causou redução adicional do crescimento do tumor ($14,35 \pm 1,12$ g) ($p < 0,05$ vs SWA e EXW).

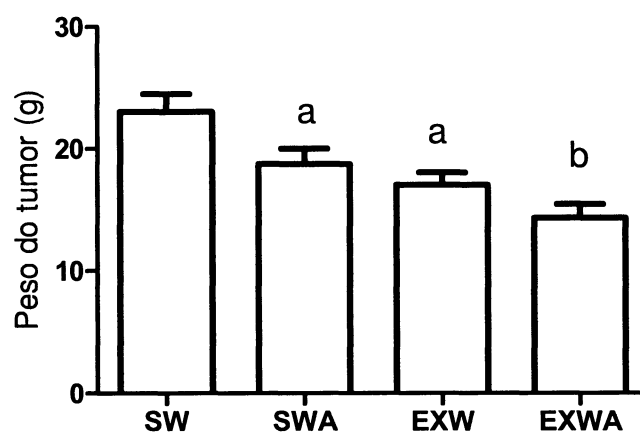


FIGURA 12: Peso do tumor (g) após 15 dias a inoculação das células tumorais dos grupos Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (SWA), Exercitado portador de tumor (EXW) e Exercitado portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (EXWA). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de 16 animais por grupo.

^a $p < 0,05$ quando comparado ao grupo SW; ^b $p < 0,05$ quando comparado ao grupo SWA e EXW.

No estudo realizado por Lima *et al.*, (2011) ratos portadores de tumor de Walker-256 realizaram protocolo de treinamento de dez séries de saltos apresentaram cerca de 34% de redução do crescimento tumoral e atenuação de alguns sintomas da caquexia. Em nosso estudo, ratos portadores do tumor de Walker-256, submetidos a protocolo de treinamento que envolvia exercícios de natação (aeróbico) e de saltos (exercício resistido), apresentaram redução em 25% do crescimento tumoral, quando comparado aos ratos sedentários e sem suplementação (FIGURA 12). Os ratos sedentários que foram suplementados com óleo de fígado de tubarão, também apresentaram redução do crescimento tumoral em aproximadamente 18%. Quando associamos o exercício físico com a suplementação com óleo de fígado de tubarão, encontramos valores percentuais ainda maiores, indicando efeito aditivo das duas intervenções na redução do desenvolvimento tumoral (FIGURA 12).

A instalação e severidade da caquexia dependem do tipo, tamanho e comportamento das células tumorais. O tumor de Walker-256 pode ser considerado bom modelo experimental por representar características similares de caquexia em humanos (EMERY, 1999). Após 15 dias da inoculação das células tumorais, o desenvolvimento do tumor é grande o suficiente para manifestar as alterações metabólicas associadas à caquexia. Neste estudo provavelmente o tamanho da massa tumoral foi o responsável pela instalação da síndrome da caquexia, uma vez que, os animais com massa tumoral menor (SWA, EXW e EXWA) apresentaram menores efeitos metabólicos associados à caquexia quando comparados aos dos grupos com massa tumoral maior (SW) (FIGURA 12). Os animais suplementados com óleo de fígado de tubarão portadores de tumor (SWA), exercitados (EXW) e a associação do exercício com a suplementação com óleo de fígado de tubarão (EXWA) apresentaram menor massa tumoral e proliferação celular (FIGURA 12 e 13) quando comparados aos do grupo sedentário portador de tumor (SW) ($p < 0,05$).

O tamanho do tumor não pode ser considerado uma boa explicação para a instalação da caquexia no organismo do hospedeiro. Em relação ao tumor de Walker 256, Pizato *et.al.* (2005) mostraram que ratos portadores do tumor de Walker-256 suplementados com razão 6:1 de ácido graxo ômega-6:ômega-3 tinham a mesma massa tumoral do grupo não suplementado porém diferente quanto aos parâmetros de caquexia. Isto mostra que o tumor de Walker 256 é um bom modelo para estudo de caquexia e este não está diretamente relacionado ao tamanho do tumor. O tumor

possui menor taxa de crescimento nos animais exercitados, assim aventamos a hipótese de que haja, no ambiente “exercício”, sinais que seriam “captados” pelo tumor reduzindo, conseqüentemente, o seu crescimento. Isso é tão verdadeiro que quando retiramos as células tumorais e as cultivamos *ex vivo* (FIGURA 13), promovendo ambiente ideal para proliferação, as células tumorais do grupo exercitado tiveram menor proliferação ($p < 0,05$). Outros mecanismos relacionados ao exercício físico responsável por alterar o desenvolvimento tumoral seria possivelmente o estresse oxidativo influenciando a indução das células tumorais a apoptose e por isso a peroxidação lipídica é importante mecanismo anticarcinogênicos (GAGO-DOMINGUEZ, et.al.; 2005). O exercício físico, por sua vez, produz grandes quantidades de espécies reativas de oxigênio, e conseqüentemente aumento da peroxidação lipídica (GAGO-DOMINGUEZ, et.al.; 2006).

5.2.3 Proliferação de células tumorais “*ex vivo*”

Na figura 13 estão apresentados os dados de proliferação de células tumorais cultivadas “*ex vivo*” durante 24 horas em contagem por minuto (cpm). No grupo sedentário com tumor (SW), a proliferação celular foi de aproximadamente 1124cpm. A suplementação com óleo de fígado de tubarão (SWA) reduziu significativamente a proliferação ($p < 0,05$) a qual foi de 840cpm. O exercício físico (EXW) induziu efeitos similares à do SWA e a proliferação foi de 784cpm ($p < 0,05$ vs SW). A associação da suplementação com óleo de fígado de tubarão e exercício físico reduziu ainda mais a proliferação celular, a qual foi significativamente diferente quando comparada à dos grupos SW, SWA e EXW ($p < 0,05$).

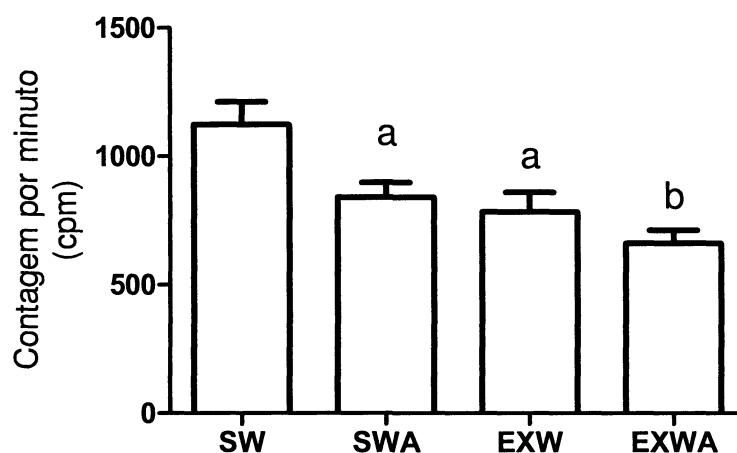


FIGURA 13: Proliferação de células do tumor de Walker-256 “*ex vivo*” em contagem por minuto (cpm), após 24 horas de cultivo na presença de [(2-14C)-¹⁴C] - timidina, obtidas dos animais dos grupos Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (SWA), Exercitado portador de tumor (EXW) e Exercitado portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (EXWA).

^ap<0,05 quando comparado ao grupo SW; ^bp<0,05 quando comparado ao grupo SWA e EXW.

5.2.4 Fosforilação de pERK 1/2

A fosforilação da proteína pERK1/2 foi maior no tumor dos ratos portadores de tumor SW ($174,2 \pm 3,45$) quando comparada à dos ratos suplementados com óleo de fígado de tubarão SWA ($161,8 \pm 2,80$) ($p < 0,05$ vs SW). A pERK1/2 do grupo exercitado EXW, foi semelhante quando comparada à do grupo SW ($p > 0,05$). A associação do exercício físico e a suplementação com óleo de fígado de tubarão causaram redução significativa da fosforilação dessa proteína quando comparada à do grupo SWA ($p < 0,05$).

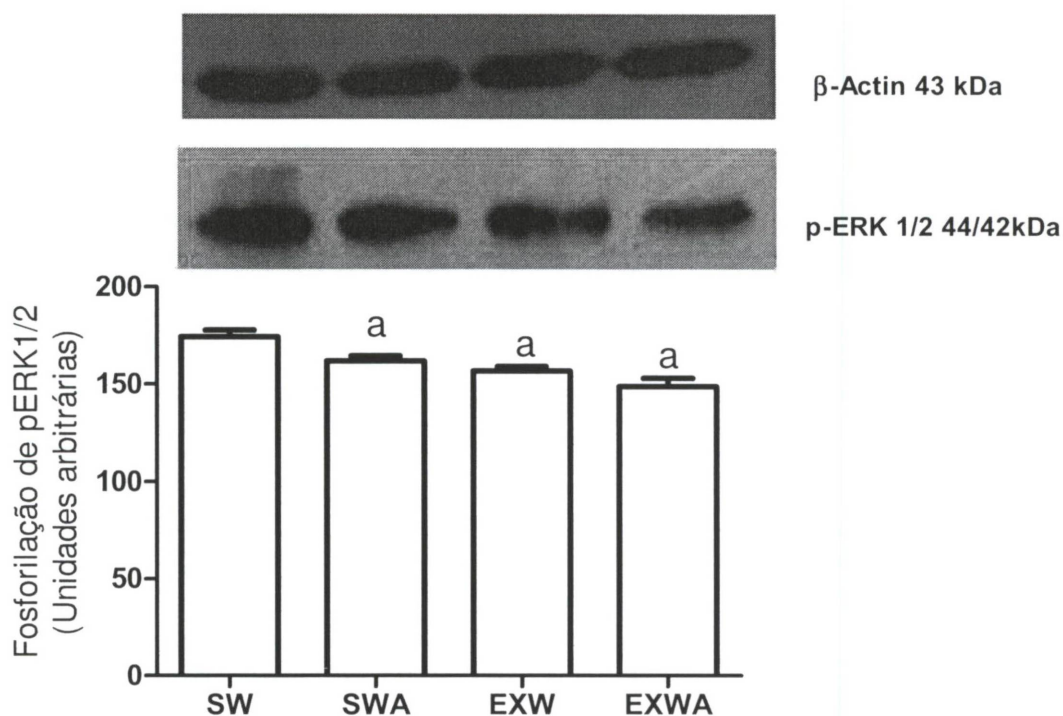


FIGURA 14: Fosforilação da proteína pERK 1/2 em tecido tumoral (unidade arbitrárias) dos animais dos grupos Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (SWA), Exercitado portador de tumor (EXW) e Exercitado portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (EXWA). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de 11 animais dos grupos SW e EXW 16 do grupo SWA e 15 do grupo EXWA.

^a $p < 0,05$ quando comparado ao grupo SW.

O óleo de fígado de tubarão é constituído de 30 a 50% por alquilgliceróis, gorduras formadas por uma cadeia hidrocarbônica, saturada ou insaturada, unida por ligação do tipo éter a uma das hidroxilas do glicerol. Ésteres lipídicos são substâncias químicas com pronunciada atividade biológica. A presença de grupo metóxi ($-\text{OCH}_3$), no início da cadeia alifática em substituição ao hidrogênio, confere estimulação da resposta imunológica e imunomodulação, atividade antifúngica, e em culturas de células demonstraram ter efeitos citotóxicos sobre células tumorais e redução de metástases (BROHULT et al., 1986). Estudos realizados com o alquilglicerol 1-O-(2-metóxi) hexadecilglicerol revelaram sua capacidade, em pequenas concentrações (μM), inibir a proliferação de células tumorais de próstata humanas (REYNOLDS et al., 2000). Tanto a suplementação com óleo de fígado de

tubarão (SWA) como o exercício físico (EXW) foram hábeis em atenuar a proliferação das células tumorais, *ex vivo*, e a associação do exercício físico com a suplementação óleo de fígado de tubarão diminuiu ainda mais a proliferação dessas células (FIGURA 13). Além da menor proliferação das células tumorais, observamos menor fosforilação da proteína pERK 1/2 nos grupos SWA, EXW e EXWA (FIGURA 14). O que poderia explicar parcialmente a redução na capacidade proliferativa de células tumorais, como observado anteriormente por Singh e Lokeshwar, 2009. Pois a fosforilação desta proteína está associada à ativação da via MAPK ou seja, proliferação celular.

5.2.6 Apoptose das células do tumor de Walker 256

A apoptose (%) das células tumorais identificadas com o marcador anexina-V foi de aproximadamente 7% no grupo SW. Tanto o exercício físico (EXW) quanto à suplementação com óleo de fígado de tubarão (SWA) aumentaram o número de células tumorais em apoptose (17% e 13%, respectivamente; $p < 0,05$ vs SW) e a associação das duas intervenções (EXWA) elevaram ainda mais a apoptose em cerca de 20% a qual foi significativamente maior quando comparada à do SW, EXW e SWA ($p < 0,05$).

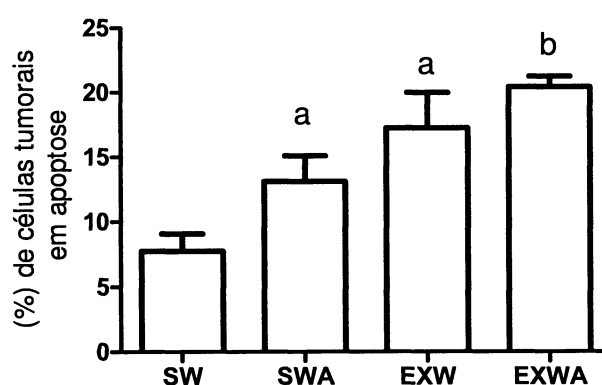


FIGURA 15: Apoptose (%) de células do tumor de Walker 256, dos grupos Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (SWA), Exercitado portador de tumor (EXW) e Exercitado portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (EXWA). Os dados estão apresentados como média \pm EPM.

^a $p < 0,05$ quando comparado ao grupo SW; ^b $p < 0,05$ quando comparado ao grupo SWA e EXW.

5.2.7 Necrose das células do tumor de Walker 256

O percentual de células tumorais encontradas em necrose, identificadas com o marcador 7-amino-actinomycin D (7-AAD) foi de aproximadamente 50% no grupo SW. Tanto o exercício físico (EXW) quanto o exercício físico associado à suplementação com óleo de fígado de tubarão (EXWA) diminuíram o percentual de células tumorais em necrose em 10% aproximadamente ($p < 0,05$ vs SW).

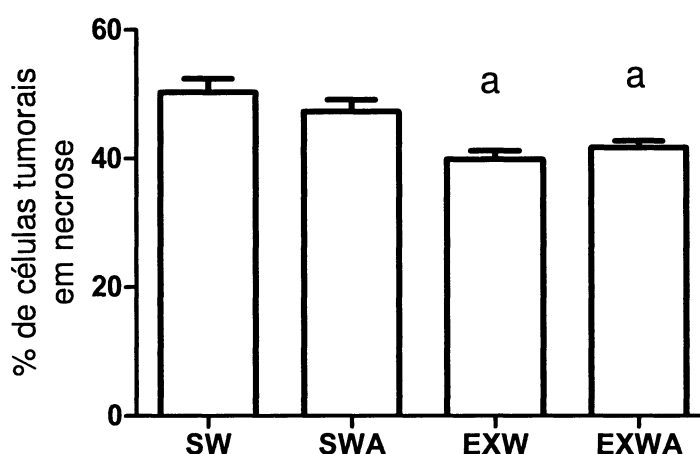


FIGURA 16: Necrose (%) de células do tumor de Walker 256, dos grupos Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (SWA), Exercitado portador de tumor (EXW) e Exercitado portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (EXWA). Os dados estão apresentados como média \pm EPM.

^a $p < 0,05$ quando comparado ao grupo SW.

5.2.5 Lipoperoxidação

O exercício físico (EXW), a suplementação como óleo de fígado de tubarão (SWA), assim como a associação das duas intervenções (EXWA) foram capazes de induzir a produção de aproximadamente 34% mais hidroperóxidos (nmol/mg proteína) quando comparados ao grupo sedentário portador de tumor (SW) ($p < 0,05$).

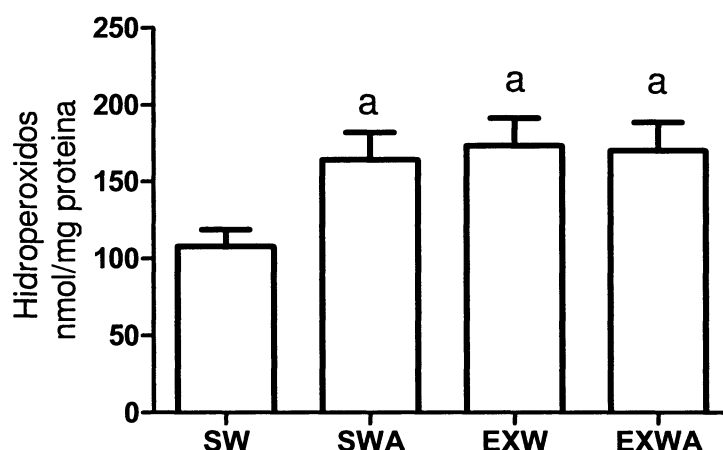


FIGURA 17: Lipoperoxidação (nmol/mg proteína no tumor) dos animais dos grupos Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (SWA), Exercitado portador de tumor (EXW) e Exercitado portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (EXWA). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de 16 animais por grupo. ^a $p < 0,05$ quando comparado ao grupo SW.

Um possível mecanismo para explicar a menor taxa de proliferação celular no grupo sedentário suplementado com óleo de fígado de tubarão poderia ser pelo aumento da apoptose em células tumorais decorrente da maior produção lipoperoxidação. De fato, observamos aumento na quantidade de células tumorais em apoptose (FIGURA 15), bem como na lipoperoxidação (FIGURA 17). Ácidos graxos poliinsaturados são mais suscetíveis à peroxidação lipídica, particularmente, por possuírem duas ou mais insaturações. Dentre os compostos presentes no óleo de fígado de tubarão encontramos em pequenas quantidades moléculas de ácidos graxos poliinsaturados n-3. Tumores obtidos de ratos portadores do tumor de Walker-256 suplementados com óleo de peixe, rico em ácidos graxos n-3, apresentaram maior peroxidação lipídica do que ratos não suplementados (MUND, 2007). Além da presença de n-3 no óleo de fígado de tubarão, os alquilglicerois encontrados em quantidades bem maiores também proporcionam condições para peroxidação lipídica. Estudo realizado por Diomedea et al. (1994), em pacientes com leucemia suplementados com alquilglicerois, relatou aumento do estresse oxidativo, sugerindo ser este um dos mecanismos possíveis para explicar o maior número de células em apoptose. De fato o grupo sedentário suplementado com óleo de fígado

de tubarão apresentou 33% mais lipoperoxidação, mesmo resultado encontrado nos grupos EXW e EXWA (FIGURA 17). Tem sido mostrado que o exercício físico é capaz de induzir a peroxidação lipídica (GAGO-DOMINGUEZ et al., 2005), aumentar a peroxidação lipídica e a produção de radicais livres após a atividade física, em modelos animais e humanos (CLARKSON; THOMPSON, 2000 ; JILL, 1996). No metabolismo oxidativo, grande parte do oxigênio consumido é ligado ao hidrogênio durante o processo de fosforilação oxidativa, gerando água. No entanto, aproximadamente 4-5% do oxigênio consumido durante a respiração não é completamente reduzido à água, formando radicais livres. Durante o exercício físico, o consumo de oxigênio aumenta e em paralelo aumenta também a produção de radicais livres e a peroxidação lipídica (CLARKSON; THOMPSON, 2000). A produção de radicais livres e peroxidação lipídica causada pelo exercício físico pode ser importante mecanismo contra o câncer (GAGO-DOMINGUEZ et al., 2005).

O exercício também demonstrou efeitos positivos em induzir a apoptose em células tumorais. O grupo exercitado EXW teve em torno de 50% mais células tumorais em apoptose que o grupo SW (FIGURA 15). Quando associamos o exercício físico com a suplementação com óleo de fígado de tubarão o número de células em apoptose foi 35% maior quando comparado ao do grupo SWA. Isto nos permite sugerir que existe efeito aditivo na apoptose de células tumorais quando associamos o exercício físico com a suplementação com óleo de fígado de tubarão. Outro possível mecanismo para explicar a menor taxa de proliferação celular nos grupos exercitados, seria que o exercício físico tem a capacidade de reduzir a proliferação de células tumorais juntamente com indução da apoptose (LEUNG et al., 2004). Isso parece acontecer pelo fato do exercício físico diminuir as concentrações de IGF-1 e aumentar às da proteína ligadora de IGF-1 (IGFBP-1) (FRANK et al., 2005), reduzindo o estímulo de crescimento na célula tumoral. Mudança na concentração desta proteína pode aumentar o conteúdo da proteína p53 no tumor, a qual protege o genoma de mutações e alterações genéticas. Quando ocorrem erros no DNA, a p53 ativa genes ou fatores que causem a parada do ciclo celular ou a célula entra em apoptose a partir da transcrição de genes de proteínas pró-apoptóticas (JIANG & WANG, 2000).

5.2.8 Razão Bax/Bcl-2

A expressão de Bax nos grupos exercitado portador de tumor (EXW) e exercitado portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (EXWA), foi maior ($p < 0,05$) quando comparada à dos grupos SW e SWA, respectivamente (FIGURA 18A). Bcl-2 teve sua expressão diminuída ($p < 0,05$) nos grupos SWA, EXW e EXWA ($p < 0,05$) (FIGURA 18B). A razão da expressão das proteínas Bax/Bcl-2 aumentou ($p < 0,05$) somente nos grupos exercitado (EXW) e exercitado e suplementado com óleo de fígado de tubarão (EXWA) (FIGURA 18C).

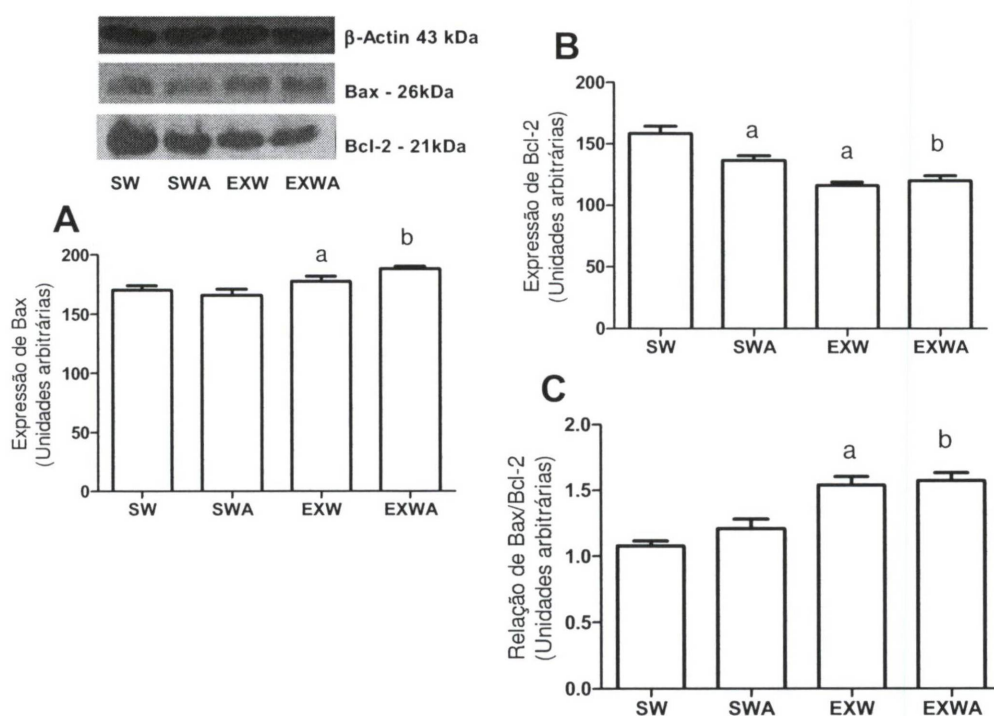


FIGURA 18: Expressão de Bax (A), Bcl-2 (B) em tecido tumoral e razão Bax/Bcl-2 (C) (unidades arbitrárias) dos animais dos grupos Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (SWA), Exercitado portador de tumor (EXW) e Exercitado portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (EXWA). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de unidades arbitrárias.

^a $p < 0,05$ quando comparado ao grupo SW; ^b $p < 0,05$ quando comparado ao grupo SWA e EXW.

A proteína Bcl-2 encontra-se ligada a membrana mitocondrial externa pela porção C-terminal, evitando o aumento da permeabilidade da membrana

mitocondrial. Ela o faz, provavelmente, por ligar-se e inibir outras proteínas pró-apoptóticas também da família Bcl-2, por exemplo, a Bax. O aumento da permeabilidade das membranas mitocondriais pode ocasionar o efluxo de proteínas mitocondriais e promover o início de uma cascata sinalizadora para a morte celular programada (KROEMER et al., 2007).

A proteína Bax atua como supressor tumoral, sua presença é essencial para apoptose em diferentes tipos celulares. Esta proteína exerce sua função dirigindo-se do citosol para a membrana mitocondrial externa onde forma complexos homooligoméricos com outros constituintes da família Bcl-2 (Bak) que dão origem a poros na membrana ou podendo ainda formar heterooligomeros com os constituintes do complexo do poro de transição de permeabilidade da membrana mitocondrial e também originar poros. Os poros formados promovem aumento da permeabilidade da membrana mitocondrial e a liberação de proteínas do espaço intermembranas como, por exemplo, o citocromo C, que além, de ser uma proteína atua como uma lançadeira de elétrons no processo bioenergético mitocondrial, uma vez no citosol juntamente com o fator de indução de proteases apoptóticas 1 (APAF-1), forma o apoptossomo que promove a maturação proteolítica da caspase-9 e essa finalmente à ativação das caspases efetoras que levam ao fenótipo apoptótico (GODVADZE; ORRENIUS, 2006)

Resistência a apoptose é uma das principais características adquiridas pelas células tumorais (PERKINS, 2004). O exercício físico (EXW) e a associação do exercício físico com a suplementação com óleo de fígado de tubarão (EXWA) foram capazes de favorecer o balanço pró-apoptótico no ambiente tumoral, tanto por aumentar a expressão de Bax (FIGURA 18A) como diminuir Bcl-2 (FIGURA 18B). A suplementação com óleo de fígado de tubarão (SW) também foi hábil em diminuir Bcl-2 (FIGURA 16B), porém não alterou a expressão de Bax (FIGURA 18B). Visto isto, alterações na razão da expressão de Bax/Bcl-2 foram observadas somente nos grupos EXW e EXWA (FIGURA 18C). Isto nos mostra que a razão da expressão de Bax/Bcl-2 não é meramente uma relação matemática e outros mecanismos estão envolvidos nesse processo, uma vez que o ensaio de apoptose mostra que tanto a suplementação, como exercício físico e associação das duas intervenções aumentaram significativamente o percentual de células tumorais em apoptose (FIGURA 15).

5.2.9 Expressão de p65, p52 e I κ B- α

A expressão das proteínas p65 e p52 foram menores nos grupos (EXW e EXWA) ($p < 0,05$) (Figura 19A e 19B, respectivamente quando comparadas à do SW). A expressão da proteína I κ B- α foi maior nos grupos SWA, EXW e EXWA, quando comparado ao grupo SW ($p < 0,05$) (Figura 19C)

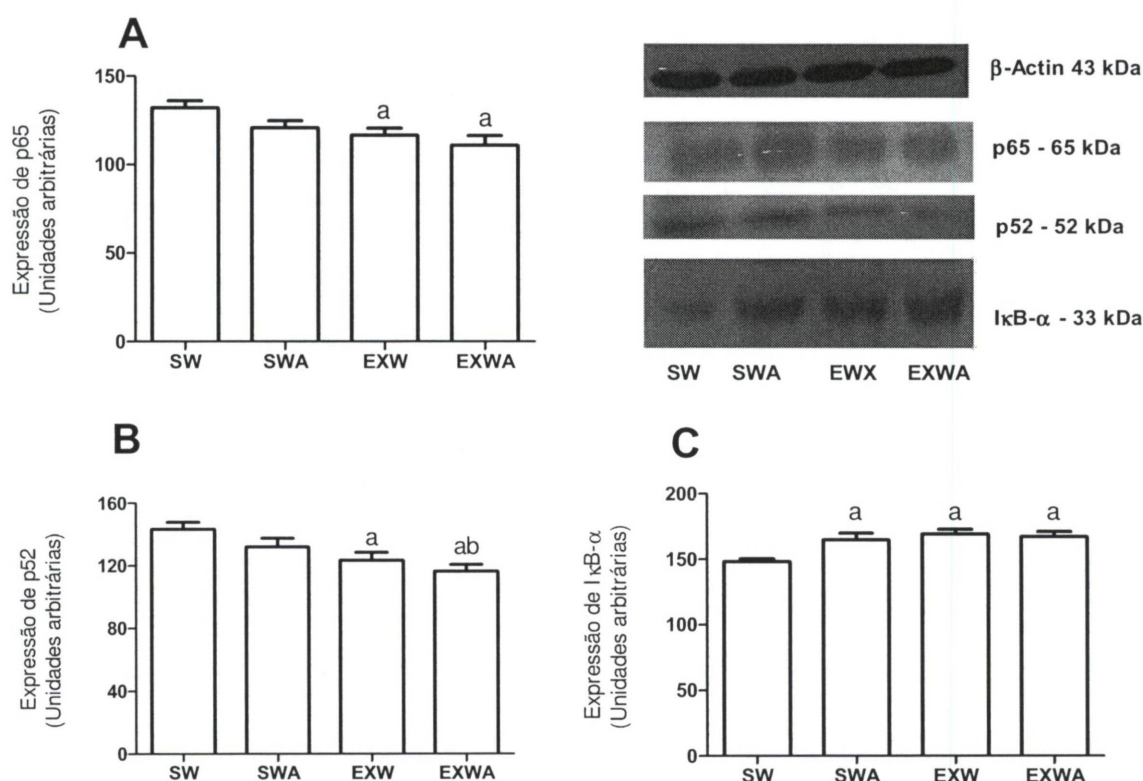


FIGURA 19: Expressão de p65 (A), p52 (B) e I κ B- α (C) em tecido tumoral (unidades arbitrárias) dos animais dos grupos Sedentário portador de tumor (SW), Sedentário portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (SWA), Exercitado portador de tumor (EXW) e Exercitado portador de tumor suplementado com óleo de fígado de tubarão (EXWA). Os dados estão apresentados como média \pm EPM de unidades arbitrárias. ^a $p < 0,05$ quando comparado ao grupo SW; ^b $p < 0,05$ quando comparado ao grupo SWA e EXW.

Alterações nas vias de sinalização envolvendo a apoptose é característica em células tumorais (PERKINS, 2004). Neste trabalho observamos aumento do número de células tumorais em apoptose e favorecimento de ambiente pró-apoptótico no

tecido tumoral, caracterizado pelo aumento da expressão da proteína Bax e diminuição da expressão de Bcl-2. Tem sido demonstrado que as proteínas da família NF- κ B estão envolvidas na sobrevivência e proliferação de células tumorais (PERKINS, 2004). O exercício físico e a associação do exercício com a suplementação com óleo de fígado de tubarão foram capazes de diminuir a expressão da via clássica do NF- κ B representada pela proteína p65 (FIGURA 19A) e também diminuíram a expressão da via alternativa relacionada à proteína p52 (FIGURA 19B), quando comparadas ao grupo SW. Além disso, observamos redução da expressão do fator inibitório I κ B- α (FIGURA 19C) no tecido tumoral dos grupos SWA, EXW e EXWA quando comparados ao grupo SW. O aumento da expressão da proteína I κ B- α em células tumorais é geralmente associada ao decréscimo na ativação da via de sinalização do NF- κ B (BARRÉ; PERKINS, 2007). A porcentagem de células tumorais em apoptose foram maiores quando associamos o exercício físico com a suplementação com óleo de fígado de tubarão. Estes resultados sugerem que a suplementação com óleo de fígado de tubarão e o exercício físico podem induzir a morte celular do tumor por formas não completamente semelhantes, que assim merecem investigação mais aprofundada.

6. CONCLUSÃO

- O exercício físico e a suplementação com óleo de fígado de tubarão, isoladamente, reduziram a massa tumoral, proliferação das células tumorais, menor fosforilação da proteína pERK 1/2 e atenuaram a instalação da síndrome metabólica da caquexia.
- A associação do exercício físico com a suplementação com óleo de fígado de tubarão causou efeito aditivo reduzindo ainda mais o crescimento e proliferação das células tumorais.
- O exercício físico e a suplementação, isoladamente, aumentaram o percentual de células tumorais em apoptose, levaram a aumento da lipoperoxidação, aumento da expressão de Bax e redução de Bcl-2, favorecendo balanço pró-apoptótico no ambiente tumoral.
- A associação do exercício físico com a suplementação proporcionou também efeito aditivo no aumento da apoptose de células tumorais.
- O exercício físico e a associação do exercício com a suplementação com óleo de fígado de tubarão foram capazes de diminuir a expressão das proteínas p65 e p52.
- A suplementação com óleo de fígado de tubarão, o exercício físico e a associação de ambas intervenções foram capazes de aumentar a expressão da proteína I κ B- α .
- Estes resultados corroboram a hipótese de que o exercício físico e a suplementação com óleo de fígado de tubarão possuem papéis importantes no auxílio do tratamento de indivíduos portadores de tumor e evidenciam que a associação destas intervenções resulta em benefícios ainda maiores.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE (ACMS). Physical Activity and Public Health: Updated Recommendation for Adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. **Special Reports**, 1423-1434, 2007.

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE (ACSM). Position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. **Med Sci Sports Exerc.** 34: 364–380, 2002.

ALBRIGHT, A.; FRANZ, M.; HORNSBY, G. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and type 2 diabetes. **Med Sci Sports Exerc.** 32: 1345–1360, 2000.

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.

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.; BUSQUETS, S.; LOPES-SORIANO, F.J. The pivotal role of cytokines in muscle wasting during cancer. **The Int. J. of Biochemistry & Cell Biology.** 37: 2036–2046, 2005.

ARGILÉS, J.M.; BUSQUETS, S.; GARCÍA-MARTÍNEZ, C. et.al. Mediators involved in the câncer anorexia-cachexia syndrome: past, present, and future. **Nutrition.** 21 977-985, 2005.

ATTAIX, D.; TAILLANDIER, D.; COMBARET, L. Expression of subunits of the 19S complex and of the PA28 activator in rat skeletal muscle. **Mol Biol Rep.** 24:95–98, 1997.

BAAR, K.; ESSER, K. Phosphorylation of p70(S6k) correlates with increased skeletal muscle mass following resistance exercise. **Am J Physiol**, 276(1):120-7, 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 Tumour-bearing Rats. **Cell Biochemistry and Function**, v. 18, p. 249-258, 2007.

BALMAIN, A., GRAY, J.; PONDER, B. The genetics and genomics of cancer. **Nat. Genet.** 33:238–244, 2003.

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

BARRÉ, B.; PERKINS, N.D. A cell cycle regulatory network controlling NF-kappaB subunit activity and function. **EMBO J** 26(23):4841-55, 2007.

BIOLO, G.; BOSULTI, A.; ISCARA, F. Contribution of the ubiquitin-proteasome pathway to overall muscle proteolysis in hypercatabolic patients. **Metabolism.** 49:689–691, 2000.

BISSELL, M.J; RADISKY, D. Putting tumours in context. **Nat. Rev. Cancer** 1:46–54, 2001.

BODINE, SC.; LATRES, E.; BAUMHUETER, S. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. **Science.** 294:1704–1708, 2001.

BONIZZI G.; KARIN M., The two NF-kB activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. **Trends in Immunology.** 25(6): 280-288, 2004.

BRAITH, R.W.; WELSCH, MA.; MILLS R.M.; KELLER, J.W.; POLLOCK, M.L. Resistance exercise prevents glucocorticoid-induced myopathy in heart transplant recipients. **Med Sci Sports Exercise.** 30:483-489, 1998.

BROHULT, A.; BROHULT, J.; BROHULT, S. JOELSSON, I. Reduced mortality in cancer patients after administration of alkoxyglycerols. **Acta Obstet Gynecol Scand.** 65: 779-785, 1986.

BROHULT, A.; BROHULT, J.; BROHULT, S. JOELSSON, I. Effect of alkoxyglycerols on the frequency of injuries following radiation therapy for carcinoma of the uterine cervix. **Acta Obstet Gynecol Scand.** 56: 441-448, 1977.

BROHULT, A. Alkoxyglycerol-esters in irradiation treatment. **Nature.** 193: 4822, 1962.

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

CALDER, P.C. N-3 Polyunsaturated fatty acids and mononuclear phagocyte function. **In: Medicinal Fatty Acids in Inflammation.** Edited by J. Kremer, Birkhauser Verlag, Basel (Switzerland): 1-27, 1998.

CAMPBELL,K.; MCTIERNAN,A. Exercise and biomarkers for cancer prevention studies. **Journal of Nutrition.** 137:161-169, 2007.

CALVO, F.; AGUDO, L.; CRESPO, P. The Ras-ERK pathway: Understanding site-specific signaling provides hope of new anti-tumor therapies Prospects & Overviews **Bioessays** 32: 412–421, 2010.

CAO, Z.; MATTISON, J.; ZHAO, Y.; JOKI, N.; GRASSO, M.; CHANG, N. Regulation of tumor necrosis factor- and fas-mediated apoptotic cell death a novel cDNA. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. 227: 266-272, 1996.

CHAWLA-SARKAR, M.; LINDNER, D.J.; LIU, Y.F.; WILLIAMS, B.R.; SEN, G.C.; SILVERMAN, R.H.; BORDEN, E.C. Apoptosis and interferons: role of interferon-stimulated genes as mediators of apoptosis. *Apoptosis* 8(3):237–249, 2003.

CHE, Z.M.; JUNG, T.H.; CHOI, J.H.; YOON, D.J.; JEONG, H.J.; LEE, E.J.; KIM, J. Collagen-based co-culture for invasive study on cancer cells-fibroblasts interaction. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 346:268–275, 2006.

CLARKSON, P.M.; THOMPSON, H.S. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? **Am J Clin Nutr**. 72: 637S–646S, 2000.

COURNEYA K. & FRIEDENREICH C.M. Relationship between exercise pattern across the cancer experience and current quality of life in colorectal cancer survivors. **Journal of Alternative and Complementary Medicine**. 3: 215–226, 1997.

COURNEYA, K.S.; KARVINEN, K.H.; CAMPBELL, K.L.; et al. Associations among exercise, body weight, and quality of life in a population-based sample of endometrial cancer survivors. **Gynecologic Oncology**. 97, 422-430, 2005.

COURNEYA, K.S.; SEGAL, R.J.; MACKEY, J.R.; GELMON, K.; REID, R.D.; FRIEDENREICH, C.M. et al. Effects of aerobic and resistance exercise in breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy: a multicenter randomized controlled trial. **J Clin Oncol** 25: 4396–404, 2007.

DANERYD, P.; HAFSTRÖM, L.; SVANBERG, E.; KARLBERG, I. Insulin sensitivity, hormonal levels and skeletal muscle protein metabolism in tumor-bearing exercising rats. **European Journal of Cancer**. 31: 97-103, 1995.

DEBATIN, K. M.; KRAMMER, P. H. Death receptors in chemotherapy and cancer. **Oncogene**, 23, 2950–2966, 2004.

DIMEO, F.C. Effects of Exercise on Cancer-Related Fatigue. **American Cancer Society**. 92: 1689-1693, 2001.

DIMEO, F.; TILMANN, M.H.; 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.

DIMEO, F.; BERTZ, H.; FINKE, J.; FETSCHER, S.; MERTELSMANN, R.; KEUL, J. An aerobic exercise program for patients with haematological malignancies after bone marrow transplantation. **Bone Marrow Transplant**. 18:1157–60, 1996.

DIOMEDE, L.; PIOVANI, B.; RE, F. The induction of apoptosis is a common feature of the cytotoxic action of ether-linked glycerophospholipids in human leukemic cells. **Int J Cancer**. 57: 645-649, 1994.

DOLCET, X.; LLOBET, D.; PALLARES, J.; MATIAS-GUIU, X. NF- κ B in development and progression of human cancer. **Virchows Arch**, May;446(5):475-82, Review, 2005.

DOLEZAL, B.A., and POTTEIGER, J.A. Concurrent resistance and endurance training influence basal metabolic rate in nondieting individuals. **J. Appl. Physiol.** 85(2): 695–700, 1998.

DOMMELS, Y. E. M.; ALINK, G. M.; BLADEREN, P. J.; OMMEN, B. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids and colorectal carcinogenesis: results from cultured colon cells, animal models and human studies. **Environmental Toxicology and Pharmacology**.12: 233-244, 2002.

DUIJTS, S.F; FABER, M.M.; OLDENBURG, H.S.; VAN BEURDEN, M.; AARONSON, N.K. Effectiveness of behavioral techniques and physical exercise on psychosocial functioning and health-related quality of life in breast cancer patients and survivors—a meta-analysis. **Psychooncology** 20(2):115–26, 2011.

DUNLOP, R.J.; CAMPBELL, C.W. Cytokines and advanced cancer. **Journal of Pain and Symptom Management**. 3: 214-232, 2000.

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.

EL-DEIRY, W. S. Insights into cancer therapeutic design based on p53 and TRAIL receptor signaling. **Cell Death Differ** 8, 1066–1075, 2001.

ELIASSEN, A.H.; HANKINSON, S.E.; ROSNER, B.; HOLMES, M.D.; WILLETT, W.C. Physical activity and risk of breast cancer among postmenopausal women. **Arch Intern Med** 170:1758–1764, 2010.

EMERY, P.W. Cachexia in experimental models. **Nutrition**. 15:600-603, 1999.

ENGLE, P.C.; JONES, J.B. Causes and elimination of erratic blanks in enzymatic metabolite assays involving the use of NAD⁺ in alkaline hydrazine buffers: improved conditions for the assay of L-glutamate, L-lactate, and other metabolites. **Analytical Biochemistry**. 88: 475-484, 1978.

ESCARCEGA, R.O.; FUENTES-ALEXANDRO, S.; GARCIA-CARRASCO, M.; GATICA, A.; ZAMORA, A. The transcription factor nuclear factor-kappa B and cancer. **Clinical oncology**. 19(2):154-61, 2007.

EVAN, G. I.; VOUSDEN, K. H. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. **Nature**, 411, 342–348, 2001.

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.J.; MORLEY, J.E.; ARGILES, J. et al. Cachexia: a new definition. **Clin Nutr** 27:793–799, 2008.

FEARON, K.C.H. The mechanisms and treatment of weight loss in cancer. **Proceedings of the Nutrition Society**. 2: 98, 1992.

FEARON, K.C.H.; BARBER, M.D.; MOSES, A.G.; AHMEDZAI, S.H.; TAYLOR, G.S.; TISDALE, M. J.; MURRAY, G.D. Double-blind, placebo-controlled, randomized study of eicosapentaenoic acid diester in patients with cancer cachexia. **Journal of Clinical Oncology**, 21:3401-3407, 2006

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

FERRARA, C.M.; GOLDBERG, A.P.; ORTMEYER, H.K.; RYAN, A.S. Effects of aerobic and resistive exercise training on glucose disposal and skeletal muscle metabolism in older men. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci** 61: 480–487, 2006.

FLEISCHER, A.; GHADIRI, A.; DESSAUGE, F. et al. Modulation apoptosis as a target for effective therapy. **Molecular Immunology**. 43:1065-1079, 2006.

FOLADOR, A.; HIRABARA, S.M.; BONATTO, S.J.R.; AIKAWA, J.; YAMAZAKI, R.K.; CURI, R.; FERNANES, L.C. Effect of fish oil supplementation for 2 generations on changes in macrophage function induced by Walker 256 cancer cachexia in rats. **Int. J. Cancer** 120: 344–350, 2006.

FRANK, L.; SORENSEN, B.; YASUI, Y.; TWOROGER, S.; SCHWARTZ, R.; ULRICH, C. Effects of exercise on metabolic risk variables in overweight postmenopausal women: a randomized clinical trial. **Obes Res** 13:615–625, 2005.

FREDENREICH, C.M.; ORENSTEIN, M.R. Physical Activity and Cancer Prevention: Etiologic Evidence and Biological Mechanisms. **J. Nutr.** 132: 3456S–3464S, 2002.

FRIEDENREICH, C.M.; NEILSON, H.K.; LYNCH, B.M. State of the epidemiological evidence on physical activity and cancer prevention. **Eur J Cancer** 46:2593–2604, 2010.

GAGO-DOMINGUEZ, M.; CASTELAO, J.; PIKE, M.C.; SEVANIAN, A.; HAILE, R.W. Role of lipid peroxidation in the epidemiology and prevention of breast cancer. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, 14: 2829–39, 2005.

GAGO-DOMINGUEZ, M.; JIANG, X.; CASTELAO, E. Lipid peroxidation and the protective effect of physical exercise on breast cancer. **Medical Hypotheses**, 2006

GILES, R.; LOBERG, R.D. Can we target the chemokine network for cancer therapeutics? **Curr. Cancer Drug Targets** 6:659–70, 2006.

GIOELI, D. Signal transduction in prostate cancer progression. **Clin Sci (Lond)** 108:293–308, 2005

GODVADZE, V.; ORRENIUS, S. Mitochondrial regulation of apoptotic cell death. **Chem. Biol. Interact.** 27:4-14, 2006.

GONZALEZ, J.M.; NAVARRO-PUCHE, A.; CASAR, B. et al. Fast regulation of AP-1 activity through interaction of lamin A/C, ERK1/2, and c-Fos at the nuclear envelope. **J Cell Biol** 183: 653–66, 2008.

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

HASKELL W, LEE I, PATE R, POWELL K, BLAIR S, FRANKLIN BA et al. Physical activity and public health. Updated recommendation for adults from the **American College of Sports Medicine and the American Heart Association** Circulation, 2007.

HASSELGREN, P.O.; FISCHER, J.E. Muscle cachexia: current concepts of intracellular mechanisms and molecular regulation. **Ann Surg**, 233: 9–17, 2001.

HASTEN, D.L.; PAK-LODUCA, J.; OBERT, K.A.; YARASHESKI, K.E. Resistance exercise acutely increases MHC and mixed muscle protein synthesis rates in 78–84 and 23–32 yr olds. **Am J Physiol Endocrinol Metab** 278: E620–E626, 2000.

HAYES, T.B. The one stop shop: chemical causes and cures for cancer. **Rev Environ Health**, 24(4):333-7, 2009.

HAYES, S.C.; REUL-HIRCHE, H.; TURNER, J. Exercise and secondary lymphedema: safety, potential benefits, and research issues. **Med Sci Sports Exerc.** 41:483–9, 2009.

HENGARTNER, M. O. The biochemistry of apoptosis. **Nature** 407, 770–776, 2000.

HESPEL, P.; OP'T EIJNDE, B.; VAN LEEMPUTTE, M.; URSO, B.; GREENHAFF, P. L.; LABARQUE, V.; DYMARKOWSKI, S.; VAN HECKE, P.; RICHTER, E. A. Oral creatine supplementation facilitates the rehabilitation of disuse atrophy and alters the expression of muscle myogenic factors in humans. **Journal of Physiology.** 536.2: 625-633, 2001.

HYNES, R.O.; LIVELY, J.C; MCCARTY, J.H.; TAVERNA, D.; FRANCIS, S.E.; HODIVALA-DILKE K, X.I.A.O. Q. The diverse roles of integrins and their ligands in angiogenesis. **Cold Spring Harb Symp Quant Biol**, 67:143-53. Review, 2002.

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

HUERTA, S.; GOULET,E.J.; LIVINGSTON,E.H.; et.al. Colon cancer and apoptosis. **The American Journal of Surgery.** 191: 517-526, 2006.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). Incidência de câncer no Brasil. Estimativa 2010. <http://www.inca.gov.br/estimativa/2010>.

JIANG, X.; WANG, X. Cytochrome c promotes caspase-9 activation by inducing nucleotide binding to Apaf-1. **J. Biol. Chem.** 275: 31199-31203, 2000.

JILL. Exercise, oxidative stress, and antioxidants. **Am J Sports Med.** 24: S20–4, 1996.

JOHNSON, N. A.; SACHINWALLA, T.; WALTON, D. W.; SMITH, K.; ARMSTRONG, A.; THOMPSON M. W.; GEORGE, J. Aerobic Exercise Training Reduces Hepatic and Visceral Lipids in Obese Individuals Without Weight Loss. **Hepatology**, 50: 1105-1112, 2009.

JOHNSTONE, R. W.; RUEFLI, A. A.; LOWE, S. W. Apoptosis: a link between cancer genetics and chemotherapy. **Cell**, 108, 153–164, 2002

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.; CHARIFI, N.; DENIS, C.; LEXELL, J. Satellite cells and myonuclei in young and elderly women and men. **Muscle Nerve** 29: 120–127, 2004.

KARIN, M.; BEN-NERIAH, Y. Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF-[kappa]B activity. **Annu Rev Immunol**, 18:621-63. Review, 2000.

KARNOUB, A.E.; WEINBERG, R.A. Ras oncogenes: split personalities. **Nat Rev Mol Cell Biol** 9: 517–31, 2008.

KARRETH, F.A.; TUVESON, D.A. Modelling oncogenic Ras/Raf signaling in the mouse. **Curr Opin Genet Dev** 19: 4–11, 2009

KATSANOS, C.S.; KOBAYASHI, H.; SHEFFIELD-MOORE, M.; AARSLAND, A.; WOLFE, R.R. A high proportion of leucine is required for optimal stimulation of the rate of muscle protein synthesis by essential amino acids in the elderly. **Am J Physiol Endocrinol Metab** 291: E381–E387, 2006.

KELLY, P. The cancer critical care paradox. **Current Anaesthesia & Critical Care**, 19:96–104, 2008.

KIM, C.J.; KANG, D.H.; PARK, J.W. A meta-analysis of aerobic exercise interventions for women with breast cancer. **West J Nurs Res** 31:437–61, 2009.

KNOLS, R.; AARONSON, N.K.; UEBELHART, D.; FRANSEN, J.; AUFDEM KAMPE, G. Physical exercise in cancer patients during and after medical treatment: a systematic review of randomized and controlled clinical trials. **J Clin Oncol** 23:3830–3842, 2005.

KROEMER, G.; GALLUZZI, L.; BRENNER, C. Mitochondrial Membrane Permeabilization In Cell Death. **Physiol. Rev.** 87:99-163, 2007.

KROTKIEWSKI, M.; PRZYBYSZEWSKA, M. JANIK, P. Cytostatic and cytotoxic effects of alkylglycerols (Ecomer). **Med Sci Monit.** 9(11): 131-135, 2003.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature, London** 227: 680-685, 1970.

LANDS, B. A critique of paradoxes in current advice on dietary lipids. **Progress in Lipids Research**, 2008 (no prelo).

LAUBER, K.; APELL, H.A.E.; SCHLOSSER, S.F.; GREGOR, M.; OSTHOFF, K.S.; WESSELBORG, S. The Adapter Protein Apoptotic Protease-activating Factor-1 (Apaf-1) Is Proteolytically Processed during apoptosis. **The Journal of Biological Chemistry.** 32: 29772 – 29781, 2001.

LEUNG, W.K. Association between cyclo-oxygenase-2 overexpression and missense p53 mutations in gastric cancer. **J. Cancer.** 84: 335–339, 2001.

LIMA, C.; ALVES, L.; IAGHER, F.; MACHADO, A.F.; KRYCZYK, M.; YAMAZAKI, R.K.; BRITO, G.A.P.; NUNES, E.A.; NALIWAIKO, K.; FERNANDES, L.C. Tumor growth reduction in Walker 256 tumor-bearing rats performing anaerobic exercise: participation of Bcl-2, Bax, apoptosis and peroxidation. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism** 36, 2011.

LINDERMAN, J.K.; GOSSELINK, K.L.; BOOTH, F.W.; MUKKU, V.R.; RINDELAND, 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.

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.

LUCIA, A.; EARNEST, C.; PEREZ, M. Cancer-related fatigue: can exercise physiology assist oncologists? **Lancet Oncol.** 4: 616–625, 2003.

MACDONALD, N.; EASSON, A.M.; MAZURAK, V.C.; DUNN, G.P.; BARACOS, V.E. Understanding and managing cancer cachexia. **J Am Coll Surg.** 197: 143-161, 2003.

McTIERNAN, A. Mechanisms linking physical activity with cancer. **Nat Rev** 8:205–211, 2008.

MACVICAR, M.G.; WINNINGHAM, M.L.; NICKEL, J.L. Effects of aerobic interval training on cancer patients' functional capacity. **Nursing Research.** 38: 348–351, 1989.

MARWICK, C. Natural compounds show antiangiogenic activity. **Journal of the National Cancer Institute**. 93(22): 1685, November 21, 2001.

McCALL, G.E., BYRNES, W.C., DICKINSON, A., PATTANY, P.M. and FLECK, S.J. Muscle fiber hypertrophy, hyperplasia, and capillary density in college men after resistance training. **J. Appl. Physiol**. 81(5): 2004–2012, 1996

McENTEE, M.F. and WHELAN, J. Dietary polyunsaturated fatty acids and colorectal neoplasia. **Biomed Pharmacother**. 56: 380-387, 2002.

McTIERNAN, A.; PORTER, P.; POTTER, J.D.; Guidelines for International Breast Health and Cancer. Control–Implementation. Breast Cancer Prevention in Countries With Diverse Resources. **CANCER Supplement October** 113 (82), 2008.

MILLET, G.P., JAOUEN, B., BORRANI, F. and CANDAU, R. Effects of concurrent endurance and strength training on running economy and VO₂ kinetics. **Med. Sci. Sports Exerc**. 34(8): 1351–1359, 2002.

MILNE, H.M.; WALLMAN, K.E.; GORDON, S.; COURNEYA, K.S. Effects of a combined aerobic exercise program in breast cancer survivors: a randomized controlled trial. **Breast cancer res treat**, 2007.

MONNINKHOF, E.; ELIAS, S.; VLEMS, F.; SCHUIT, A.; VOSKUIL, D et al. Physical activity and breast cancer: a systematic review. **Epidemiology** 18:137–157, 2007.

MOORE, S.C.; PETERS, T.M.; AHN, J.; PARK, Y.; SCHATZKIN, A.; ALBANES, D. et al. Physical activity in relation to total, advanced, and fatal prostate cancer. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev** 17: 2458–2466, 2008.

MUND, R.C.; PIZATO, N.; BONATTO, S.; NUNES, E.A.; VICENZI, T.; TANHOFFER, R.; OLIVEIRA, H.H.P.; CURI, R.; CALDER, P.C.; FERNANDES, L.C. Decreased tumor growth in Walker 256 tumor-bearing rats chronically supplemented with fish oil involves COX-2 and PGE₂ reduction associated with apoptosis and increased peroxidation. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 76, p. 113-120, 2007.

NGO, T.H.; BARNARD, R.J.; LEUNG, P.S.; et.al. Insulin like growth factor I (IGF-I) and IGF binding protein-1 modulate prostate cancer cell growth and apoptosis: possible mediators for the effects of diet and exercise on cancer cell survival. **Endocrinology** 144: 2319–2324, 2003.

NICHOLSON D.W.; THORNBERRY, N.A. Caspases: killer proteases. **Trends Biochem Sci** 22: 299–306, 1997.

NOUROOZ-ZADEH, J.; SARMADI-TAJADDINI, J.; WOLFF, S.P. Measurement of plasma hydroperoxide concentrations by de ferrous oxidation-xylene orange assay in conjunction with tryphenyphosphine. **Analytical biochemistry**. 220: 403-409, 1994.

OLSEN, C.M.; BAIN, C.J.; JORDAN, S.J.; NAGLE, C.M. Recreational physical activity and epithelial ovarian cancer: a case-control study, systematic review, and meta-analysis. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev** 16:2321–2330, 2007.

PAAVOLAINEN, L., HAKKINEN, K., HAMALAINEN, I., NUMMELA, A. and RUSKO, H. Explosive strength training improves 5-km running time by improving running economy and muscle power. **J. Appl. Physiol.** 86(5): 1527–1533, 1999.

PAROO, Z. Y.; CHEN, S. Phosphorylation of the human microRNA-generating complex mediates MAPK/Erk signaling. **Cell** 139: 112–22, 2009.

PERKINS, N. D. NF-KB: tumor promoter or suppressor? **Trends Cell Biol.** 14; 64 - 69, 2004.

PESCATELLO, L.; FRANKLIN, B.A.; FAGARD, R.; FARQUHAR, W.B.; KELLEY, G.A.; RAY, C.A. American College of Sports Medicine. Exercise and hypertension. **Med Sci Sports Exerc.** 36: 533–553, 2004.

PIETRAS, R.J.; WEINBERG, O.K. Antiangiogenic steroids in human cancer therapy. **eCAM**, v. 2, n. 1, p. 49-57, 2005.

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 tumorbearing rats. **Journal of Nutrition Biochemistry.** 15: 358-65, 2004.

PIZATO, N.; BONATTO, S.; YAMAZAKI, R.K.; AIKAWA, J.; NOGATA, C.; MUND, R.C.; NUNES, E.A.; PICONCELLI, M.; NALIWAIKO, K.; CURI, R.; CALDER, P.C.; FERNANDES, L.C. Ratio of n-6 to n-3 fatty acids in the diet affects tumor growth and cachexia in Walker 256 tumor-bearing rats. **Nutrition and Cancer**, v. 53, n. 2, p. 194-201, 2005.

PRZYBYSZEWSKA, M.; JANIK, P. Cytostatic and cytotoxic effects of alkylglycerols (Ecomer) Marcin Krotkiewski, Signature: **Med Sci Monit**, 9(11): P1131-135, 2003.

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

PUGLIESE, P.T.; JORDAN, K.; CEDERBERG, H.; BROHULT, J. Some biological actions of alkylglycerols from shark liver oil. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 4, n. 1, p. 87-99, 1998.

RAJAPUROHITAM, V.; BEDARD, N.; WING, S.S. Control of ubiquitination of proteins in rat tissues by ubiquitin conjugating enzymes and isopeptidases. **Am J Physiol**, 282: E739–745, 2002.

REYNOLDS, S.; CEDERBERG, H.; CHAKRABARTY, S. Inhibitory effect of 1-O(2 methoxy) hexadecyl glycerol and phenylbutyrate on the malignant properties of

human prostate cancer cells. **Clinical & Experimental Metastasis**. 18; 309-312, 2000.

RICHIERI, G.V.; OGATA, R.T.; ZIMMERMAN, A.W.; VEERKAMP, J.H.; KLENFIELD, A.M. Fatty acid binding proteins from different tissues show distinct patterns of fatty acid interactions. **Biochemistry**, v39(24), 7197-7204, 2000.

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, 489, 2002.

ROBERTS, P.J.; DER, C.J. Targeting the Raf-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer. **Oncogene** 26: 3291–310, 2007.

ROSE, D.P.; CONNOLLY, J.M. Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. **Pharmacology & Therapeutics**. 83: 217-244, 1999.

SAELENS, X.; FESTJENS, N.; VANDEWALLE, L.; VAN GURP, M.; VAN LOO, G.; VANDENABEELE, P. Toxic proteins released from mitochondria in cell death. **Oncogene** 23, 2861–2874, 2004.

SALA-VILA, E.A.M; CALDER, P.C. Fatty acid composition abnormalities in atopic disease: evidence explored and role in the disease process examined. **Clinical and Experimental Allergy**, 38: 1432–1450, 2008.

SANTANA, L.S. Biochemical mechanisms involved in the Omega fatty acids digestion, absorption and metabolism. **RBPS**, 17(4): 211-216, 2004.

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 immune deficient patients infected with human immunodeficiency virus. **J. Clin. Endocrinol Metab**. 84: 1268-1276, 1999.

SCHILLER, J.H.; BITTNER, G. Potentiation of platinum antitumor effects in human lung tumor xenografts by the angiogenesis inhibitor squalamine: effects on tumor neovascularization. **Clinical Cancer Research**. 5: 4287-4294, 1999.

SCHMITZ, K.H.; COURNEYA, K.S.; MATTHEWS, C.; DEMARK-WAHNEFRIED, W.; GALVAO, D.A.; PINTO, B.M. et al. American College of Sports Medicine roundtable on exercise guidelines for cancer survivors. **Med Sci Sport Exerc** 42:1409–1426, 2010.

SEELAENDER, M. C. L. **Metabolismo de lipídeos em ratos portadores do tumor de Walker 256**: avaliação da atividade do sistema carnitina palmitoil transferase mitocondrial hepático. São Paulo,1994. 122p. Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.

SEGAL, R.; EVANS, W.; JOHNSON, D.; SMITH, J.; COLLETTA, S.; GAYTON, J.; WOODARD, S.; WELLS, G.; REID, R. Structured exercise improves physical

functioning in women with stages I and II breast cancer: results of a randomized controlled trial. **Journal of Clinical Oncology**. 19: 657–665, 2001.

SEGAL, R.J.; REID, R.D.; COURNEYA, K.S. Resistance exercise in men receiving androgen deprivation therapy for prostate cancer. **J Clin Oncol**. 21: 1651-1652, 2003.

SHORT, K.R.; VITTONI, J.L.; BIGELOW, M.L.; PROCTOR, D.N.; NAIR, K.S. Age and aerobic exercise training effects on whole body and muscle protein metabolism. **Am J Physiol Endocrinol Metab** 286: E92–E101, 2004.

SILLS JR, A.K.; WILLIAMS, J.I.; TYLER, B.M.; EPSTEIN, D.S.; SIPOS, E.P.; DAVIS, J.D.; MCLANE, M.P.; PITCHFORD, S.; CHESHIRE, K.; GANNON, F.H.; KINNEY, W.A.; CHAO, T.L.; DONOWITZ, M.; LATERRA, J.; ZASLOFF, M.; BREM, H. Squalamine inhibits angiogenesis and solid tumor growth in vivo and perturbs embryonic vasculature. **Cancer Research**. 58: 2784-2792, 1998.

SIMPOULOS, A.P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. 00, 2002.

SINGH, R.K.; LOKESHWAR, B.L. Depletion of intrinsic expression of Interleukin-8 in prostate cancer cells causes cell cycle arrest, spontaneous apoptosis and increases the efficacy of chemotherapeutic drugs. **Mol Cancer** 31(8):57. 2009

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.

STEVINSON, C.; FOX, K. Role of exercise for cancer rehabilitation in UK hospitals: a survey of oncology nurses. **Eur J Cancer Care (in press)**, 2004.

STORY, M.; KODYM, R. Signal transduction during apoptosis; implications for cancer therapy. **Front Biosci**. 3: d365-375, 1998.

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.

TANAKA, K. Molecular biology of the proteasome. **Biochem Biophys Res Commun**. 247: 537–541, 1998.

TANAKA, Y.; GOTO, K.; MATSUMOTO, Y; UEOKA, R. Remarkably high inhibitory effects of docosahexaenoic acid incorporated into hybrid liposomes on the growth of tumor cells along with apoptosis. **International Journal of Pharmaceutics**, 359:264-271, 2008.

TAYLOR, S.R.; BROWN, A.; EBRAHIN, S.; JOLLIFFE, J.; NOORANI, H.; RESS, K.; SKIDMORE, B.; STONE, J.A.; THOMPSON, D.R; OLDRIDGE, N. Exercise-based rehabilitation for patients with coronary heart disease: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **The American Journal of Medicine** 116: 682-692, 2004.

TEICHER, B.A.; WILLIAMS, J.I.; TAKEUCHI, H.; ARA, G.; HERBST, R.S.; BUXTON, M.A. Potential of aminosterol, squalamine in combination therapy in the rat 13,762 mammary carcinoma and the murine Lewis lung carcinoma. **Anticancer Research**. 18: 2567-2573, 1998.

THORNBERRY, N.A.; LAZEBNIK, Y. Caspases: enemies within. *Science* 281:1312–1316, 1998.

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

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

TISDALE, M, J. Pathogenesis of cancer cachexia. **The journal supportive oncology**. 1: 159-168, 2003.

TISDALE, M. J. Cancer cachexia. **Langenbecks Arch Surg**, 389:299-305, 2004.

TISDALE, M.J. Molecular Pathways Leading to Cancer Cachexia. *Physiology* 20: 340–348, 2005.

TYMCHUK CN, TESSLER SB, ARONSON WJ, AND BARNARD RJ. Effects of diet and exercise on insulin, sex hormone-binding globulin, and prostatespecific antigen. **Nutr. Cancer** 31: 127-131, 1998.

VERMEULEN, K.; BERNEMAN, Z. N.; VAN BOCKSTAELE, D. R. Cell cycle and apoptosis. **Cell Prolif.**, 36: 165-175, 2003.

VILLUNGER, A.; STRASSER, A. Does death receptor signaling play a role in tumorigenesis and cancer therapy? **Oncol Res**. 10 (11-12): 541-550, 1998.

VOSKUIL, D.W.; MONNINKHOF, E.M.; ELIAS, S.G.; VLEMS, F.A.; VAN LEEUWEN, F.E. Physical activity and endometrial cancer risk, a systematic review of current evidence. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev** 16:639–648, 2007.

VUORI, I. Dose-response of physical activity and low back pain, osteoarthritis, and osteoporosis. **Med Sci Sports Exerc** 33: S551–S586, 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.

WILLIAMS, A.; SUN, X.; FISCHER, J.E. The expression of genes in the ubiquitin-proteasome proteolytic pathway is increased in skeletal muscle from patients with cancer. **Surgery**, 126: 744–750, 1999.

WILLIAMS, J.I.; WEITMAN, S.; GONZALEZ, C.M.; JUNDT, C.H.; MARTY, J.; STRINGER, S.D.; HOLROYD, K.J.; MCLANE, M.P.; CHEN, Q.; ZASLOFF, M.; VON HOFF, D.D. Squalamine treatment of human tumors in nu/ni mice enhances platinum-based chemotherapies. **Clinical Cancer Research**. 7: 724-733, 2001.

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

WINNINGHAM M.L.; MACVICAR M.G. The effect of aerobic exercise on patient reports of nausea. **Oncology Nursing Forum**.15: 447–450, 1988.

WINZER, B.M.; WHITEMAN, D.C.; REEVES, M.M.; PARATZ, JD. Physical activity and cancer prevention: a systematic review of clinical trials *Brooke Cancer Causes Control* 22:811–826. 2011.

WORLD CANCER RESEARCH FUND/AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH . The second expert report: food, nutrition, physical activity and the prevention of cancer: a global perspective. **American Institute for Cancer Research, Washington, DC, 2007.**

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 > or = 76 yr old. **Am. J. Physiol.** 277 (1 pt 1): E118-E125), 1999.

YOUNES, R, N.; NOGUCHI, Y.; Pathophysiology of câncer cachexia. **Revista Hospital de Clinicas da Faculdade de Medicina de São Paulo**. set/out , 191-193, 2000.

YU,H.; ROHAN,T. Role of the Insulin-Like Growth Factor Family in Cancer Development and Progression. **J.Natl Cancer Inst.** 92: 1472-89, 2000.

ZHANG, L.; DU, J., HU Z, et al. IL-6 and serum amyloid A synergy mediates angiotensin II-induced muscle wasting. **J Am Soc Nephrol** 20:604–612, 2009.