FELIPE FEDRIZZI DONATTO

EFEITOS DO TREINAMENTO DE FORÇA E DA SUPLEMENTAÇÃO DE TRIBUTIRINA SOBRE OS PARÂMETROS DA CAQUEXIA EM RATOS INOCULADOS COM TUMOR DE WALKER 256

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Tecidual do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

São Paulo
2013

FELIPE FEDRIZZI DONATTO

EFEITOS DO TREINAMENTO DE FORÇA E DA SUPLEMENTAÇÃO DE TRIBUTIRINA SOBRE OS PARÂMETROS DA CAQUEXIA EM RATOS INOCULADOS COM TUMOUR DE WALKER 256

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Tecidual do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Biologia Celular e Tecidual

Orientadora: Marília Cerqueira Leite Seelaender

Versão original

São Paulo
2013

DADOS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e Informação Biomédica do
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

© reprodução total

Donatto, Felipe Fedrizzi.
Efeitos do treinamento de força e da suplementação de tributirina sobre os parâmetros da caquexia em ratos inoculados com tumor de Walker 256 / Felipe Fedrizzi Donatto. -- São Paulo, 2013.

Orientador: Profa. Dra. Marilia Cerqueira Leite Seelaender.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento. Área de concentração: Biologia Celular e Tecidual. Linha de pesquisa: Caquexia associada ao câncer e metabolismo do tecido adiposo branco.

Versão do título para o inglês: Effects of resistance exercise and tributyrin supplementation upon cachexia parameters in mouse with Walker 256 tumour.

1. Exercício 2. Nutrição 3. Câncer 4. Inflamação 5. Tecido adiposo branco I. Seelaender, Profa. Dra. Marília Cerqueira Leite II. Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Tecidual III. Título.

ICB/SBIB0215/2013

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Candidato(a): Felipe Fedrizzi Donatto.

Título da Tese: Efeitos do treinamento de força e da suplementação de tributirina sobre os parâmetros da caquexia em ratos inoculados com tumor de Walker 256 .

Orientador(a): Profa. Dra. Marilia Cerqueira Leite Seelaender.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada a ...../...../....., considerou

( ) Aprovado(a) **( ) Reprovado(a)**

Examinador(a): Assinatura: .....
Nome: .....
Instituição: .....

Examinador(a): Assinatura: .....
Nome: .....
Instituição: .....

Examinador(a): Assinatura: .....
Nome: .....
Instituição: .....

Examinador(a): Assinatura: .....
Nome: .....
Instituição: .....

Presidente: Assinatura: .....
Nome: .....
Instituição: .....

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 – Cep. 05508-900 São Paulo, SP - Brasil
Telefone :(55) (011) 3091.7733 – telefax : (55) (011)3091-7438
e-mail: cep@icb.usp.br

COMISSÃO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

Decl. CEEA.059.09

D E C L A R A Ç Ã O

Em adendo ao Certificado **062/04/CEEA** datado de 16.08.04, por solicitação da Profa. Dra. Marília C. L. Seelaender, responsável pela linha de Pesquisa, autorizo a inclusão dos alunos **Miguel Batista Jr, Renata Sandoval, Marcus Vinícius Giampietro, Juliana Penone, Felipe Donato, Anderson Peres Campos, Rodrigo Xavier das Neves, Fernando de Oliveira Rosa, José Ignácio Zambra, Michele Joana Alves** ao projeto de pesquisa "*Bases metabólicas e moleculares da caquexia associada ao câncer*", uma vez que se trata de utilização da mesma espécie animal e de métodos experimentais similares ao referido certificado.

São Paulo, 10 de setembro de 2009.

Prof. Dr. WOTHAN TAVARES DE LIMA
Coordenador
CEEA- ICB/USP

A meus pais Luiz e Estela, a minha esposa Drucilla e meu filho Kalel

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os colegas de laboratório que de alguma forma participaram deste trabalho e sem eles isso não seria possível. A Emília Ribeiro, pelo excelente apoio técnico e por sempre passar um exemplo de vida. A minha querida “Chefe” Marília Seelaender por acreditar em minha capacidade, que além de me orientar sempre, também me preparou como pesquisador, professor e pessoa. A todos os professores do departamento e ao pessoal da secretaria, sempre auxiliando os alunos.

A CAPES pelo auxilio financeiro.

Em especial para meus pais que me criaram e me deram suporte para que eu alcançasse esse objetivo de vida. A Drucilla, esposa que sempre me amou e esteve ao meu lado e ao meu filho Kalel, que vai ler isso quando crescer e saber o quanto o pai dele o ama.

"A persistência é o caminho do êxito."

Charlie Chaplin

“O que seria do mundo senão fossem os loucos”

RESUMO

DONATTO, F. F. **Efeitos do treinamento de força e da suplementação de tributirina sobre os parâmetros da caquexia em ratos inoculados com tumor de Walker 256.** 2013. 82 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Tecidual) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

A caquexia é um síndrome para neoplástica que interfere na morfologia e fisiologia do tecido adiposo. Embora descrições de indivíduos caquéticos remontem há mais de dois mil anos, e nas últimas décadas, o estudo da síndrome tenha recebido atenção crescente, sua etiologia continua controversa e não existe terapia conhecida que a reverta. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do treinamento de força e da suplementação de tributirina sobre os parâmetros da caquexia em animais inoculados com células do tumor de Walker 256. Ratos Wistar foram randomizados em grupos experimentais (n=7): Controle (CT), Tumor (TB), Tumor tratado com tributirina (TBTR), Treinado com Tumor (TFTB) e Tumor Treinado e suplementado com tributirina (TFTBTR). Os parâmetros: peso tumoral, peso total carregado, quantidades de glicogênio hepático e muscular, perfil plasmático bioquímico e hormonal, quantidades de citocinas (IL-6, IL-10 e TNF-α) e morfologia do tecido adiposo mesentérico foram analisados. Os grupos TBTR e TFTBTR tiveram menores quantidades de massa tumoral quando comparado com o grupo TB. O glicogênio muscular de TFTB e TFTBTR estavam 37% e 35% maiores comparados com TB. As proteínas musculares aumentaram 48% e 50% para os grupos TFTB e TFTBTR, sendo diferentes comparados com os grupos CT e TB. As quantidades de IL-6, IL-10 e TNF-α dos grupos TBTR, TFTB, TFTBTR se mostrou menor quando comparados ao grupo TB. Se observou melhor balanço de IL-10/TNF-a nos grupos TFTB e TFTBTR, sendo que a secção transversa diminuiu nos grupos TB e TBTR. A morfologia do tecido adiposo dos grupos TBTR, TFTB, TFTBTR se mostrou menos modificada pela caquexia. O modelo de exercício físico e a suplementação utilizada são ferramentas não farmacológicas e podem ser utilizados em estudos envolvendo pacientes com caquexia associada ao câncer, com segurança.

Palavras-chave: Exercício. Nutrição. Câncer. Inflamação. Tecido adiposo branco.

ABSTRACT

DONATTO, F. F**. Effects of resistance exercise and tributyrin supplementation upon cachexia parameters in mouse with Walker 256 tumour.** 2013. 82 p. Thesis (Ph.D. in Cell and Tissue Biology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

Cachexia is a syndrome to neoplastic interfering in the morphology and physiology of adipose tissue. Although descriptions of cachectic individuals date back over two thousand years and decades, the study of the syndrome has received increasing attention, its etiology remains controversial and there is no therapy that reverses this syndrome. The aim of this study was to evaluate the effects of strength training and supplementation of tributyrin on the parameters of cachexia in animals inoculated with tumor cells of Walker 256.Wistar rats were randomized into treatment groups (n = 7): Control (CT), Tumour Bearing (TB), Tumour treated with tributyrin (TBTR) Trained with Tumour (TFTB) and Tumour Trained and supplemented with tributyrin (TFTBTR). The parameters: tumor weight, total weight loaded amounts of muscle and liver glycogen, plasma biochemical and hormonal profile, amounts of cytokines (IL-6, IL-10 and TNF-α) and morphology of the mesenteric adipose tissue were analyzed. The TBTR and TFTBTR groups have smaller amounts of tumor mass compared to TB group. Muscle glycogen and TFTB TFTBTR were 37 % and 35 % higher compared with TB. The muscle proteins increased by 48 % and 50 % for TFTB and TFTBTR groups being different compared with TB and TC groups. The amounts of IL-6, IL-10 and TNF- α TBTR groups, TFTB, TFTBTR decreased when compared to the TB group. Better ratio was observed in groups IL-10/TNF-a TFTB and TFTBTR, and the cross-section decreased in the groups TBTR and TB. The morphology of adipose tissue groups TBTR, TFTB, TFTBTR was less modified by cachexia. The model of exercise and supplementation are not used pharmacological tools and can be used in studies involving patients with cachexia associated with cancer with safety.

Keywords: Exercise. Nutrition. Câncer. Inflammation. White adipose tissue.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Associação entre caquexia e doenças.....19
Figura 2. Participação do tecido adiposo no desenvolvimento da caquexia associada ao câncer.....21
Figura 3. Efeitos das miocinas sobre a caquexia associada ao câncer.....25
Figura 4. Exemplo do aparato desenvolvido e utilizado para o protocolo de treinamento.....30
Figura 5. Esquema do protocolo experimental de treinamento e suplementação....31
Figura 6. Evolução semanal de peso corporal dos grupos experimentais.....35
Figura 7. Consumo de ração do grupos experimentais.....37
Figura 8. Peso final dos tumores do grupos experimentais.....38
Figura 9. Evolução da carga utilizada no protocolo de exercício.....39
Figura 10. Conteúdo de glicogênio do músculo gastrocnêmio.....41
Figura 11. Conteúdo muscular (gastrocnêmio) de proteína.....42
Figura 12. Concentração de glicogênio hepático dos grupos experimentais.....43
Figura 13. Conteúdo de TAG hepático nos grupos experimentais.....44
Figura 14. Concentração de IL-6 dos tecidos adiposos.....45
Figura 15. Somatório da concentração de IL-6 dos tecidos adiposos em cada grupo experimental.....48
Figura 16. Concentração de TNF-α dos tecidos adiposos.....49
Figura 17. Somatório da concentração TNF-α dos tecidos adiposos em cada grupo experimental.....50
Figura 18. Concentração de IL-10 dos tecidos adiposos.....51
Figura 19. Somatório da concentração de IL-10 dos tecidos em cada grupo grupo experimental.....52
Figura 20. Razão IL-10/TNF-α no tecido adiposo retroperitoneal.....53
Figura 21. Razão IL-10/TNF-α no tecido adiposo mesentérico.....54
Figura 22. Razão IL-10/TNF-α no tecido adiposo epididimal.....55
Figura 23. Área seccional dos adipócitos dos tecidos adiposos analisados.....56
Figura 24. Somatória da área dos adipócitos dos tecidos adiposos dos grupos experimentais.....57
Figura 25. Histologia do tecido adiposo mesentérico dos grupos experimentais.....58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição nutricional da ração NUVLAB® utilizada no experimento.....28

Tabela 2. Peso corporal dos grupos experimentais durante o período experimental..36

Tabela 3. Peso final dos tumores dos grupos experimentais.....38

Tabela 4. Evolução de cargas utilizadas no protocolo de exercício experimental.....39

Tabela 5. Conteúdo de glicogênio e proteína do musculo gastrocnêmio.....41

Tabela 6. Conteúdo de glicogênio e TAG hepático.....44

Tabela 7. Determinações bioquímicas plasmáticas do grupos experimentais.....46

Tabela 8. Concentrações plasmáticas de testosterona, leptina e adiponectina.....46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AB: Ácido Butirico

AGCC: Ácidos graxos de cadeia curta

AIDS: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

ChREBP: Proteína ligadora responsiva a carboidratos

CPR43: Receptor acoplado a proteína G 43

CPT: Carnitina palmitoil transferase

CT: Grupo Controle

DPOC: Doença pulmonar obstrutiva crônica

ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay

HDAC: Inibidores da Histona deacetilase

HE: Hematoxilina eosina

IL-1: Interleucina 1

IL-6: Interleucina 6

IL-10: Interleucina 10

L-FABP: Proteínas hepáticas de ligação de ácidos graxos

LPL: Lipase de lipoproteina

MCP-1: Proteína quimioatraente de monócitos

MGF: Mechano growth factor

mTOR: Alvo mamífero de rapamicina

NFκB: fator nuclear κ B

OSM: Oncostatina M

PGE_2 : Prostaglandinas E2

PPAR: Receptor de proliferador de peroxissomos

RIE: Radioimunoensaio

WHO: World Health Organization

TAB: Tecido adiposo branco

TNF-α: Fator de Necrose Tumoral α

TBTR: Grupo tumor tratado com tributirina

TFTB: Grupo treinado com tumor

TFTBTR: Grupo treinado com tumor tratado com tributitirina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 15
2 REVISÃO DE LITERATURA 18
2.1 Caquexia…….....18
2.2 Tecido adiposo na caquexia……..……..20
2.3 Ácido butírico e tributirina…….……....22
2.4 Treinamento de força e câncer.....24
3 OBJETIVOS…….....27
3.1 Objetivo geral…….…….....27
3.2 Objetivos específicos…….....27
4 MATERIAIS E MÉTODOS…….....28
4.1 Estudo em ratos…….....28
4.2 Evolução de peso e consumo de ração……..……...28
4.3 Ração utilizada e suplementação de tributirina……..…....28
4.4 Implante tumoral, sacrifício dos animais e coleta dos tecidos…..…….29
4.5 Protocolo de treinamento…….…....29
5 ANÁLISES BIOQUÍMICAS……..…....32
5.1 Determinações plasmáticas……..……32
5.2 Determinações por Radioimunoensaio (RIE).....32
5.3 Análise histológica e morfologia do adipócito.....32
5.4 Análise de triacilglicerol hepático.....33
5.5 Quantificação de glicogênio hepático e muscular.....33
5.6 Quantificação de proteínas musculares……33
5.7 Quantificação de citocinas teciduais.....33
5.8 Análise estatística.....34
6 RESULTADOS.....35
7 DISCUSSÃO.....58
8 CONCLUSÕES.....67
REFERÊNCIAS 68
APÊNDICE A - Tabelas dos resultados.....77
APÊNDICE B - Trabalho científico publicado.....82

1 INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2011), por ano cerca de 12 milhões de pessoas no mundo são diagnosticadas com algum tipo de câncer Destes pacientes, uma fração considerável desenvolve uma síndrome paraneoplástica chamada caquexia.

O termo caquexia deriva do grego “kakos” que significa “mal”, e “hexis” que significa “condição do corpo” (TISDALE, 1997). É uma síndrome multifatorial caracterizada por anormalidades metabólicas como perda de peso, anorexia, astenia e anemia e alterações no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas (ARGILÉS et al., 1997; ARGILÉS et al., 2003a).

Embora descrições de indivíduos caquéticos remontem há mais de dois mil anos, e nas últimas décadas, o estudo da síndrome tenha recebido atenção crescente, sua etiologia continua controversa e não existe terapia conhecida que a reverta (FEARON et al., 2011; VON HAEHLING et al., 2002).

Em um consenso de 2011, foram apresentados 3 estágios da caquexia associada ao câncer: pré-caquexia, caquexia e caquexia refratária, esta ultima mais próxima ao óbito do paciente (FEARON et al., 2011). Estes estágios envolvem crescente redução de peso ponderal, explicado pelo catabolismo da musculatura esquelética e do tecido adiposo branco (TAB), cerca de metade de todos os pacientes de câncer desenvolve a síndrome que esta presente na grande maioria (mais de dois terços) dos pacientes com câncer avançado (ARGILÉS et al., 1997; FEARON; MOSES, 2002).

A inflamação sistêmica que se instala no quadros de caquexia, altera o metabolismo lipídico de tecidos periféricos, como fígado e tecido adiposo. Com isso, a síndrome promove marcada redução da massa gorda total, aumento na lipólise, na oxidação total de ácidos graxos, hiperlipidemia, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, aumento no ciclo de lipólise-reesterificação, diminuição das taxas de lipogênese e da atividade e conteúdo de mRNA da lipase de lipoproteinas (LPL) (ARGILÉS et al., 2003; FEARON; MOSES, 2002).

Os efeitos da caquexia sobre o perfil lipídico do plasma são tão acentuados, que servem como marcadores na triagem de pacientes para o diagnóstico inicial de câncer (ARGILÉS et al., 1997; ARGILÉS et al., 2003). Essas alterações são postuladas como sendo induzidas por mediadores da caquexia, tais como fator de

necrose tumoral-α (TNF-α) e IL-6, duas citocinas pró-inflamatórias envolvidas na instalação do processo inflamatório no tecidos perifericos.

Em especial, as alterações que acontecem no tecido adiposo decorrentes do agravamento da síndrome, o transformam em relevante fonte de adipocinas pró-inflamatórias. Machado, Costa-Rosa e Seelaender (2004), demonstraram alterações importantes no tecido adiposo de animais com caquexia, sendo que o achado mais notável foi a infiltração de células do sistema imunológico, resultando em inflamação local e sistêmica, conduzindo o paciente a um quadro de inflamação crônica.

Os esforços em reduzir a inflamação associada à caquexia podem ser farmacológicos, nutricioniais ou envolvem protocolos de atividade, pois o tecido muscular é capaz de produzir miocinas antiinflamatórias (FEBRAIO; PEDERSEN, 2005; PEDERSEN et al., 2007; PEDERSEN; HOJMAN, 2012; PEDERSEN, 2012), sendo capaz de contrabalancear o processo sistêmico inflamatório sistêmico. O exercício diminui a inflamação nos depósitos adiposos, sendo que estudos anteriores demonstram que o exercício aeróbio de intensidade submáxima e também de longa duração, promove marcada atenuação da síndrome (LIRA et al., 2008; LIRA et al., 2009) e através de um protocolo de treinamento de força, (DONATTO et al., 2013), demonstrou efeitos antiinflamatórios no tecido adiposo mesentérico.

Sabe-se que a alimentação tem um importante papel na prevenção de vários tipos de câncer. Contudo, quando a doença já está instalada e avançada, a nutrição pode contribuir na tentativa de melhorar a qualidade de vida do paciente. Assim, busca-se um alimento ou nutriente que possa contribuir para atenuar os efeitos da caquexia. Na literatura, o ácido butírico (AB) ou butirato mostra efeitos *in vitro* e *in vivo* em modelos experimentais de câncer (STELIOU et al., 2012). O AB contém em sua cadeia 4 carbonos e pode ser metabolizado pelos enterócitos como fonte de energia, utilizado como substrato energético para os leucócitos (TOPPING; CLIFTON, 2001), bem como induzir a apoptose tumoral (VECCHIA et al., 1997), através da inibição da enzima deacetilase de histonas, modulando a transcrição genética do tumor (DRUMMOND et al., 2005).

A tributitina é um triacilglicerol com 3 moléculas de AB esterificadas com glicerol (EDELMAN, 2003). Por ser um lipídio, a tributirina quando em contato com enzimas lipolíticas, como a lipase pancreática, preserva o AB da digestão mediada. Naturalmente, o ácido graxo butirato é distribuído no plasma, porém possui uma meia vida curta. Uma das possibilidades para prolongar a meia vida do AB e realizar a suplementação oral de tributirina, na forma de óleo ou cápsulas gelatinosas.

A justificativa do presente trabalho é utilizar o modelo experimental de câncer e estudar os efeitos do exercício de força e da suplementação de tributirina, como duas estratégias não farmacológicas contra a inflamação associada à caquexia.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Caquexia

A palavra caquexia é derivada do grego “kakos hexis”, que significa “má condição” (ARGILÉS et al., 2003; TISDALE, 1997) e foi descrita por Hipócrates há mais de dois mil anos atrás. A caquexia é uma síndrome complexa, caracterizada pela diminuição do peso corporal, depleção dos estoques de gordura, diminuição da massa muscular, anorexia, astenia e distúrbios metabólicos (BRUERA; SWEENEY, 2000). Seu diagnóstico é extremamente complexo, pois a perda de massa muscular e massa adiposa acontece antes de qualquer redução do consumo calórico, progredindo durante o decorrer da doença (AGUSTSSON et al., 2012).

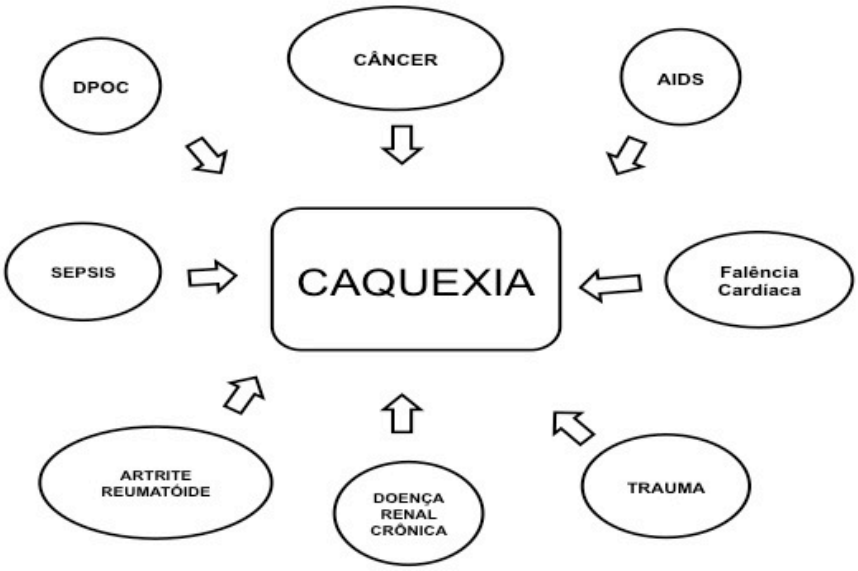
Apesar das descrições de indivíduos caquéticos remontem a mais de dois mil anos, e, nas últimas décadas, o estudo da síndrome tenha recebido atenção crescente, sua etiologia continua desconhecida, seu diagnóstico pode ser falho e ainda não existe terapia conhecida que a reverta (ARGILÉS et al., 2003b; VON HAEHLING et al., 2002).

A definição mais abrangente desta síndrome inclui perda de peso, com ou sem perda de gordura corporal, com três critérios adicionais de perda de força muscular, anorexia e alterações bioquímicas, principalmente, dislipidemia (EVANS, 2008).

Esta síndrome paraneoplástica é comum nos estágios avançados de câncer, contribuindo para a diminuição da qualidade e expectativa de vida. A caquexia associada ao câncer é uma causa importante de morbidade e mortalidade, está presente em mais de 80% dos pacientes com câncer avançado, pode ser responsável direta de 20-40% dos óbitos (BRUERA; SWEENEY, 2000; GORDON et al., 2005) e seu grau não está associada ao tamanho do tumor (FEARON; MOSES, 2002).

A caquexia parece não ser exclusivamente no câncer, e pode ocorrer em associação a diversas doenças crônicas como na síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), nos grandes traumas, nas moléstias digestivas, na insuficiência renal, em doenças respiratórias, na artrite reumatóide e na insuficiência cardíaca (EMERY, 1999; MORLEY et al., 2006; TISDALE, 1997), conforme ilustra a figura 1.

Figura 1. Associação entre caquexia e doenças.



Legenda: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC) e Sindrome da Imunodeficiência adquirida (AIDS)

Atualmente a síndrome é concebida com uma doença degenerativa inflamatória crônica (LIRA et al., 2009; SEELAENDER et al., 2012)**.** As principais mediadoras do processo inflamatório são as citocinas, proteínas de baixo peso molecular que, sabidamente tem grande importância na etiologia da caquexia (KABIR et al., 1995; KRZYSTEK-KORPACKA et al., 2007; MARTÍN et al., 1999; PFITZENMAIE et al., 2003; SHIBATA et al., 1998). Em estudo recente, Laviano et al. (2012), postulam a ação pró-inflamatória das citocinas pode modular o eixo neuro endócrino e secreção de fatores tumorais catabólicos.

Não obstante, a grande maioria dos estudos restringe-se a avaliar a inflamação de maneira sistêmica, examinando apenas parâmetros plasmáticos e negligenciando a inflamação tecidual, que pode, por sua vez, estar contribuindo marcadamente para o catabolismo do tecido e para inflamação sistêmica.

Seelaender et al. (2012) postulam que, estratégias antiinflamatórias podem atenuar o quadro da caquexia. Em modelos experimentais é possível analisar as citocinas *in loco*, especialmente no tecido adiposo e muscular, avaliando assim o balanço entre citocinas pró-inflamatórias e as antiinflamatórias.

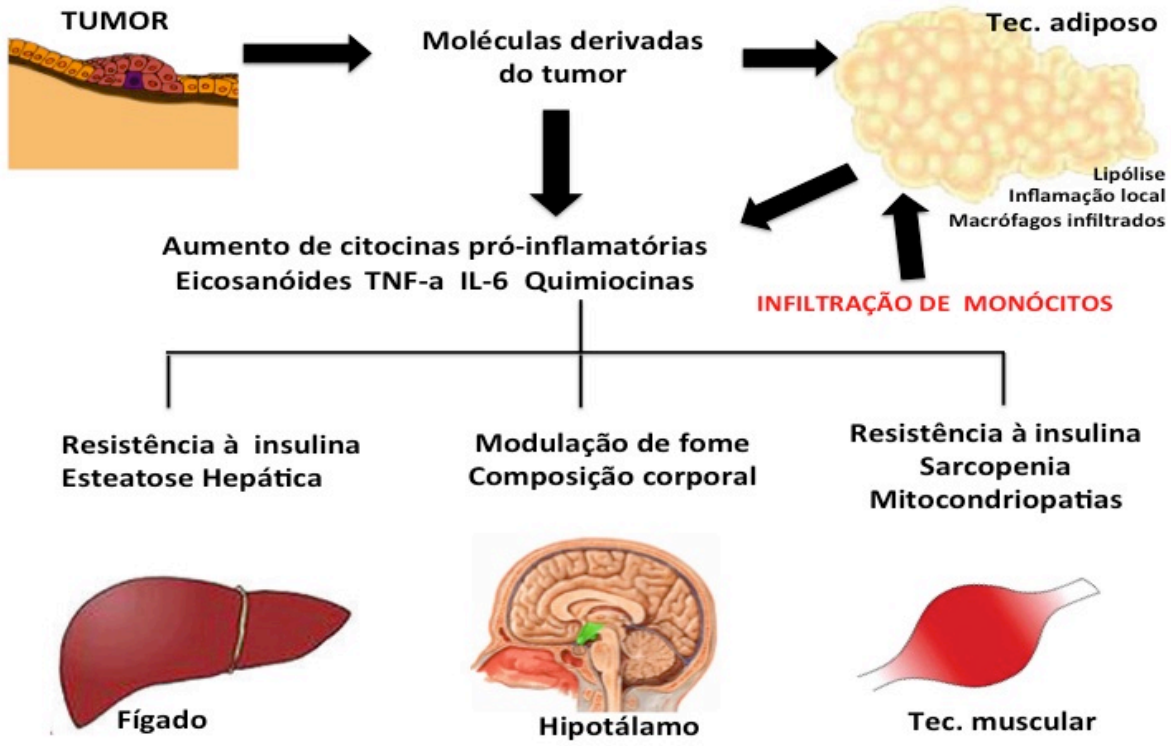
2.2 Tecido adiposo na caquexia

Os adipócitos provêm de células pluripotenciais que se transformam em precursores mesenquimatosos à potencial transformação em condroblastos, osteoblastos, mioblastos ou pré-adipócitos, exibindo estreita ligação com células vasculares e do estroma e da matriz extracelular que sofrem influência de hormônios exógenos (GREGOIRE et al., 1998). Os componentes da matriz extracelular modulam a diferenciação dos pré-adipócitos, produzindo moléculas adesivas que estabelecem as ligações intercelulares, modificando a morfologia e volume dessas células (TCHKONIA et al., 2001).

O tecido adiposo é um órgão regulado funcionalmente por nervos, hormônios, nutrientes, por mecanismos autócrinos e parácrinos, sendo um importante órgão com funções reguladoras no balanço energético e do eixo neuroendócrino (FRULHBECK et al., 2001). Por ser o maior órgão de reserva energética, representa um papel fundamental na sobrevivência, evolução e capacidade adaptativa no mundo animal e atualmente suas funções transcendem em muito as que tradicionalmente lhe eram atribuídas.

O tecido adiposo vem recebendo maior atenção dos pesquisadores, uma vez desvendada sua ligação com o processo inflamatório e com o desenvolvimento da resistência periférica à insulina. Assim esse tecido produz e secreta diversas proteínas moduladoras, conhecidas como adipocinas, que regulam a resposta inflamatória, função do sistema imunológico, a função hipotalâmica e a utilização dos substratos energéticos nos tecidos periféricos (UNGER, 2003), conforme ilustra a figura 2.

Figura 2. Participação do tecido adiposo no desenvolvimento da caquexia associada ao câncer.



Legenda: Fator de Necrose Tumoral α (TNF-α), Interleucina 6 (IL-6).

O tecido adiposo vem sendo apontado como um dos mais afetados e potencialmente o de maior contribuição no desenvolvimento da caquexia. As citocinas que são secretadas a partir do tecido adiposo e que exibem interação com vários processos patológicos, incluindo o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), Interleucina-1(IL-1), Interleucina-6 (IL-6) e Interleucina-10 (IL-10), que são diretamente associadas ao aumento do tecido adiposo intravisceral e com o processo de resistência periférica à insulina (BING; TRAYHURN, 2008).

A infiltração de células do sistema imunológico é um dos principais eventos que culminam no aumento da produção e secreção destas citocinas durante o processo inflamatório. Batista et al. (2012) demonstraram que o tecido adiposo secreta fatores quimioatrantes, recrutando uma população de células com grande potencial secretório.

2.3 Ácido butírico e tributirina

O ácido butírico (AB) contém em sua cadeia quatro carbonos e pode ser metabolizado pelos enterócitos e leucócitos como fonte de energia (TOPPING; CLIFTON, 2001). Em humanos, o cólon é o principal local de fermentação das fibras e conseqüente produção dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), dentre eles o acetato (60%), butirato (25%) e propionato (15%) (CUMMININGS et al., 1987). Por mais de 20 anos, o AB foi estudado como um agente terapêutico no tratamento do câncer, pela modulação que promove no crescimento e diferenciação dos tumores (PRASAD, 1980).

O butirato apresenta efeitos anticarcinogênicos e antiinflamatórios, pode alterar a barreira intestinal e tem papel na saciedade e no estresse oxidativo, além de ser considerado agente antidiarréico, uma vez que estimula a absorção de sódio e água (VELAZQUEZ et al., 1997). Estes ácidos graxos também são capazes de induzir à apoptose tumoral (VECCHIA et al., 1997), através da inibição da enzima deacetilase de histonas (HDAC), modulando a transcrição genética do tumor (DRUMMOND et al., 2005; GIERMASZ et al., 2001; MAIER et al., 2000).

Os efeitos antiinflamatórios mediados através dos AGCC, se dão pela inibição do Fator Nuclear κ B (NFκB) (ROMBEAU, 2004). O NFκB está relacionado com a modulação de citocinas pró-inflamatórias, inibição da apoptose e conseqüente aumento da sobrevivência de células tumorais (SHEPPARD et al., 2004). Naturalmente os seres humanos produzem os AGCCs a partir da fermentação bacteriana intestinal causada pela ingestão de fibras dietéticas. Esta pode ser a explicação mais plausível dos efeitos preventivos da ingestão crônica de verduras, legumes e frutas contra o aparecimento de mutações celulares em todo o trato intestinal (DONATTO et al., 2006).

A tributirina é um triglicerídeo de cadeia curta, sendo considerado uma forma mais estável do ácido butírico, promovendo mais eficientemente os efeitos deste ácido graxo. Por ser rapidamente absorvida, a tributirina é metabolizada pelas lípases, liberando assim os ABs e estes exercerão seus efeitos terapêuticos nas células alvo (HEIDOR et al., 2012). Devido à melhor farmacocinética e estabilidade química em comparação com o ácido butirico (HEERDT et al., 1999), há aumento da meia vida do AB plasmático possibilitando o tratamento via oral, na forma de óleo ou cápsulas gelatinosas, com boa tolerância (CONLEY et al., 1998).

Em trabalhos mais atuais outros mecanismos são propostos para explicar os efeitos da suplementação de tributirina. Pelo menos duas vias intracelulares são apontadas: maior ativação do receptor acoplado à proteína G, especificamente o CPR43 (VINOLO et al., 2011). Outro mecanismo descrito anteriormente é a inibição da enzima histona deacetilase (HDAC) (MAIER et al., 2000). Além disso, os efeitos fisiológicos também podem estar relacionados com o funcionamento normal de hormônios como por exemplo a insulina. Vinolo et al. (2012), demonstraram melhora da resistência à insulina em camundongos expostos à alimentação hiperlipidica, com efeitos importantes na captação tecidual de glicose e de lipídios plasmáticos.

Ainda que a tributitina tenha seu potencial antineoplásico testado contra diversos tipos de células tumorais, não se tem relatos dos seus efeitos sobre a caquexia associada ao câncer. Diante dos trabalhos encontrados na literatura, é evidente que a tributirina pode exercer efeitos sobre o crescimento tumoral, bem como no processo inflamatório que ocorre na caquexia associada ao câncer. Desta forma, desvendar o mecanismo através do qual a tributirina age sobre os fatores da caquexia em modelo experimental, gerando subsídios para sua utilização em seres humanos acometidos pelo câncer.

2.4 Treinamento de força e câncer

Em 2004, o professor Costa Rosa introduziu pela primeira vez o conceito termo “exercício físico como um tratamento adjunto nas doenças degenerativas”, sendo esse o título de uma brilhante revisão de literatura, no qual aponta que o exercício físico pode influenciar de forma positiva o eixo neuroimunoendócrino, afetado por algumas doenças, entre elas a caquexia associada ao câncer (LAVIANO et al., 2012; MARTINS et al., 1998).

Estes efeitos foram confirmados em estudos experimentais de nosso grupo (BACURAU et al., 2000; BATISTA et al., 2007; BATISTA et al., 2008; LIRA et al., 2008) e de outros (KRAMER; GOODYEAR, 2007; YOU; NICKLAS, 2008), demonstrando que a atividade física crônica, na forma de treinamento de endurance é capaz de modular a inflamação e a expressão de citocinas. No laboratório da Profa. Seelaender, o modelo experimental de exercício aeróbio já foi caracterizado, em trabalhos já publicados (LIRA et al., 2008; LIRA et al., 2009). Este, exibe efeitos anti-inflamatórios no tecido adiposo e no fígado, bem como melhora no perfil lipídico plasmático. Observou-se na totalidade de nossas investigações, uma nítida redução das alterações metabólicas e moleculares resultantes da síndrome em resposta à atividade física crônica, em concomitância com a redução do quadro inflamatório local e sistêmico.

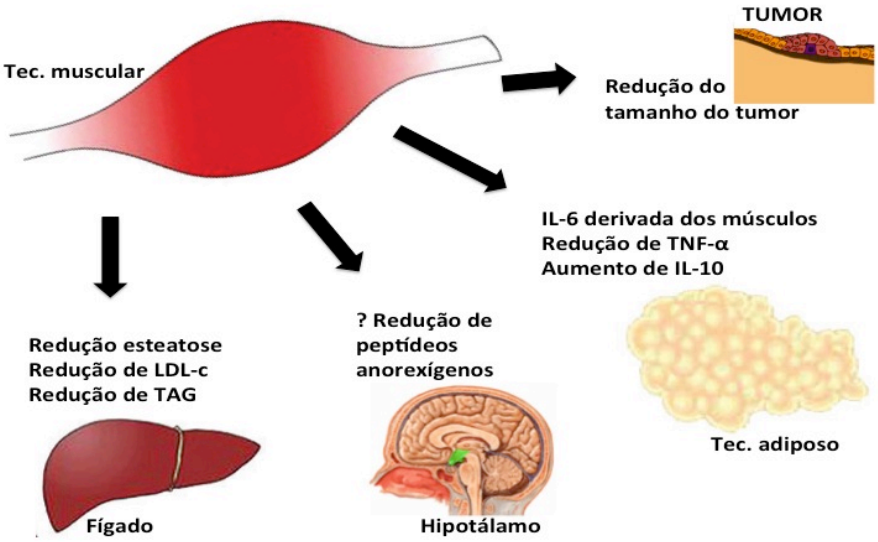
Com o efeito proteolítico que a caquexia associada ao câncer promove, o estado do paciente pode ser agravar rapidamente, conduzindo à perda de peso rápida ao quadro de astenia e à incapacidade de deambulação. Isso complica o quadro geral do paciente, impossibilitando sua reversão e piorando a qualidade de vida (FEARON et al., 2011). Uma alternativa que se tem mostrado efetiva em alguns casos é o efeito do exercício físico de força adaptado à condição e capacidade do paciente com câncer.

O treinamento de força é considerado um tratamento não farmacológico para combater a sarcopenia associada à caquexia. Seus efeitos estão relacionados com o aumento de massa muscular e força nos pacientes, através da regulação negativa da produção de citocinas e do aumento da sinalização de proteínas intracelulares relacionadas ao anabolismo muscular (AL-MAJID; WATERS, 2008).

No âmbito molecular, o aumento da proteólise associada ao câncer se dá por vários fatores como maior ativação do catabolismo muscular, frente a maior expressão gênica de citocinas pró-inflamatórias, sendo que as mais relacionadas com a proteólise são o TNF-α, IL-6, IL-1 e INF-γ (ARGILÉS et al., 2003a; ARGILÉS et al., 2003b). Outra via relacionada é a ausência da fosforilação de proteínas intracelulares como o alvo em células de mamífero da rapamicina (mTOR) e p70S6 quinase, responsáveis pela fase inicial da transcrição da síntese de proteínas miofibrilares e o aumento da atividade do sistema de autofagia ubiqutina-proteassoma muscular, diminuindo o anabolismo muscular do paciente (BAAR, 2006). Zanchi et al. (2009) demonstraram que o treinamento de força crônico em animais experimentais promoveu menor expressão gênica do MuRF-1 e Atrogin-1, relacionados com a cascata de sinalização do catabolismo muscular.

Existem evidências que os músculos esquelético produzem e secretam miocinas (PEDERSEN et al., 2007) e que a que massa muscular exercitada pode secretar as citocinas IL-6, Interleucina-8 (IL-8) e Interleucina-15 (IL-15). Estas por sua vez possuem efeitos teciduais, modulando a lipólise, a síntese protéica e a angiogênese (NIELSEN; PEDERSEN, 2008). Conforme a figura 3, os principais tecidos afetados pela ação das miocinas são o tecido adiposo e o tecido hepático.

Figura 3. Efeitos das miocinas sobre a caquexia associada ao câncer



Legenda: Interleucina 6 (IL-6), Interleucina-10 (IL-10), Low density lipoprotein (LDL-c), Triacilglicerol (TAG), Fator de Necrose Tumoral α (TNF-α),

Como os efeitos do exercício de endurance no modelo experimental de Walker 256 já estão bem documentados, a proposta de utilizar um protocolo de exercício nunca adotado anteriormente no modelo experimental é pertinente. Assim adotou-se o modelo de escalada em escada, que representa o treinamento de força em seu metabolismo energético.

Entretanto, os efeitos do treinamento de força jamais foram avaliados no modelo experimental do tumor de Walker 256. Desta forma, são escassas as publicações relacionadas à aplicação do treinamento de força e seus efeitos sobre a inflamação sistêmica e tecidual da caquexia associada ao câncer.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da administração oral de tributirina e do treinamento de força sobre a inflamação associada à caquexia em ratos inoculados com o tumor Walker 256.

3.2 Objetivos específicos

→ Avaliar se ocorrem alterações morfológicas no tecido adiposo, mediado ao tratamento nutricional e do exercício;

→ Estudar as mudanças sobre o perfil bioquímico plasmático na caquexia, sob os efeitos da suplementação e do exercício físico;

→ Analisar os efeitos do treinamento de força e da suplementação sobre a quantidade o glicogênio hepático e muscular e a concentração de proteínas musculares em ratos caquéticos;

→ Avaliar a interferência da caquexia na evolução da carga usada no protocolo de exercício de força;

→ Estudar os efeitos do exercício e da suplementação sobre o balanço de citocinas anti e pró-inflamatórias no tecido adiposo epididimal, mesentérico e retroperotonial.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Estudos em ratos

Foram estudados ratos machos da linhagem Wistar (200-250 g), obtidos no biotério central do Instituto de Ciências Biomédicas I (ICB I) da Universidade de São Paulo (USP). Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas coletivas, a uma temperatura média de 24 ± 1 ºC, com ciclos de claro/escuro a cada 12 horas de modo controlado. Os animais foram divididos em grupos experimentais (n=7) : **(1) controle (CT), (2) controle Tumor (TB) (3) Tumor tratado com tributirina (TBTR), (4) Treino de Força com Tumor (TFTB) e (5) Treino de Força com Tumor tratado com tributirina (TFTBTR).** O trabalho foi previamente aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA-ICB-USP) com o número: CEEA 059.09.

4.2 Evolução de peso e consumo de ração

A massa corporal e o consumo de ração foram aferidos diariamente, no mesmo horário, ao longo do período experimental em balança de precisão (OHAUS® USA).

4.3 Ração utilizada e suplementação de tributirina

Para todos os grupos foi oferecida a ração comercial balanceada NUVLAB® (São Paulo, SP, Brasil), conforme as regras do National Research Council (NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 2008).

Tabela 1. Composição nutricional da ração NUVLAB® utilizada no experimento.

Nuvital - Nuvilab CR1	100g
Cho	57,9%
Prot	30%
Lip	12%

A tributirina utilizada se encontrava na forma esterificada e foi adquirida na Sigma Aldrich® (St. Louis, MO, USA). Os animais receberam a quantidade de 400 mg/kg de tributirina ao dia, durante 8 semanas. A dose usada de forma crônica foi escolhida a partir de trabalhos prévios na literatura (EGORIN et al., 1999; SU et al., 2004). Para se obter uma suplementação isocalórica, os outros grupos experimentais receberam a mesma quantidade de calorias na forma de maltodextrina diluída em água.

4.4 Implante tumoral, sacrifício dos animais e coleta dos tecidos

As células do tumor de Walker 256 foram injetadas de forma subcutânea no flanco direito dos ratos (2 $x10^7$ células, em 1 mL de solução salina 0,9 %) (SEELAENDER et al., 1996; MACHADO et al., 2004), conforme figura. Os animais foram eutanasiados por decapitação sem anestesia, o sangue for centrifugado (400 g, 15 min, 4 ºC) e armazenado a –80 ºC, para posterior análise.

Os tecidos adiposos mesentérico, retroperitoneal e epididimal, bem como o fígado, músculo gastrocnêmio e o peso tumoral foram pesados em balança analítica e comparados ao peso corporal total do animal.

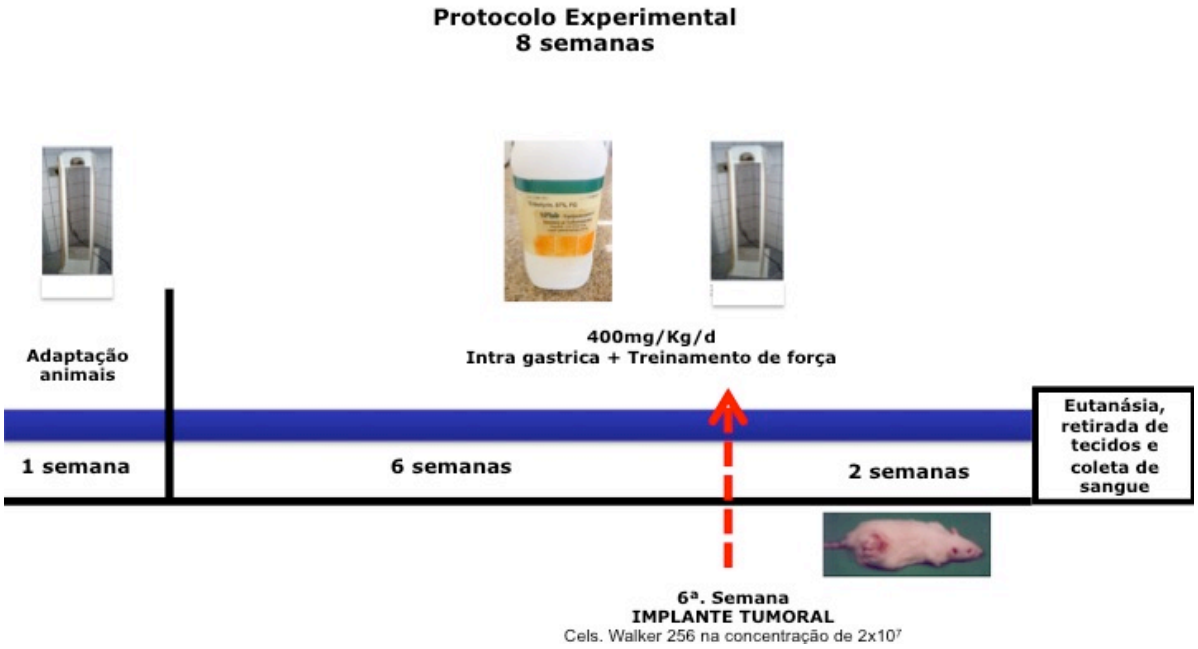
4.5 Protocolo de treinamento

O protocolo de subida em escada foi realizado conforme o descrito por Hornberger, Farrar (2004). Inicialmente os ratos foram familiarizados com o treinamento de força com escalada de escadas com uma carga de pesos fixados à suas caudas. Os pesos foram fixados na porção proximal da cauda com uma tira auto-adesiva e a escalada na fase de adaptação foi estimulada através de um toque no dorso do animal. No topo da escalada os ratos encontraram uma gaiola (20 x 20 x 20 cm), onde descansaram por 120 segundos.

Figura 4. Exemplo do aparato desenvolvido e utilizado para o protocolo de treinamento.

O procedimento era repetido até que os ratos subissem a escada 3 vezes consecutivas, sem nenhum incentivo. Três dias seguintes à familiarização com a escada, os ratos continuaram a realizar esta sessão de "adaptação" ao treinamento e iniciaram o protocolo de exercício de força progressiva de alta intensidade. A primeira sessão de treinamento consistiu em escalar de 4 a 8 vezes, carregando progressivamente cargas mais pesadas. Na escalada inicial uma sobrecarga equivalente a 75 % do peso corporal do animal era utilizado. No topo da escada eles descansavam por 120 segundos. Após completar o transporte dessa carga com sucesso, um peso adicional de 30 gramas era adicionado ao aparato. Este procedimento foi repetido sucessivamente até que a carga alcançada não permitisse que o rato conseguisse escalar a escada. Então, a maior carga transportada com sucesso até o topo da escada era considerada a carga máxima dos ratos para aquela sessão. O protocolo de treinamento foi realizado três vezes por semana, durante 8 semanas.

Figura 5. Esquema do protocolo experimental de treinamento e suplementação.



5 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

5.1 Determinações plasmáticas

A determinação da concentração plasmática de glicose, triglicerídeos, colesterol total, HDL-colesterol, LDL-c foram realizadas conforme a descrição dos kits comerciais colorimétricos Labtest® (Lagoa Santa, MG, Brasil).

5.2 Determinações por Radioimunoensaio (RIE)

A determinação quantitativa de testosterona e leptina e adiponectina, foram realizados por kit de RIE de competição entre um antígeno radioativo e outro não por um numero fixo de sítios de ligação. Conforme o manual do fabricante, o ensaio foi realizado com alíquotas de soro previamente separados. Para cada hormônio, Inicialmemente foram incubados 50 uL de amostra, padrões e 500 uL do reagente especifico. Em último processo foi adicionado 100 uL de anti-soro e seguido de incubação em tempos e temperaturas estabelecidos pelos frabricantes (kit Millipore® Corp. Bedford, MA, USA). Após inversão em papel absorvente, foi realizada a contagem através do contador gama por 1 minuto. Resultados expressos em ng/ml para testosterona e leptina e ug/ml para adiponectina.

5.3 Análise morfológica dos adipócitos.

Para coloração com Hematoxilina-Eosina (HE) foram utilizados cortes dos tecidos adiposos mesentérico, epididimal e retroperitoneal, após a desparafinização. Os cortes foram corados em Hematoxilina de Harris por 15 minutos e diferenciados em álcool-ácido. A seguir, os cortes foram corados com a solução alcoólica de Eosina. As lâminas eram mergulhadas em álcool 95 % e álcool absoluto e imediatamente diafanizadas. Ao final, as lâminas eram montadas em resina (resina Alkelan). Para cada amostra, foram analisados 15-20 campos (x40) de 3 secções distintas. A área seccional do adipócito foi determinada utilizando um software de análise de imagem (Leica Application System, Leica, Germany) e expressa em μm^2.

5.4 Análise de triacilgicerol (TAG) hepático

Para a quantificação de TAG hepático as amostras de fígado foram submetidas à extração lipídica com clorofórmio e metanol (2:1) e a quantidade de lipídios hepáticos foi realizada pelo método de Folch et al. (1957) e expressos em mg/g de tecido.

5.5 Quantificação de glicogênio hepático e muscular

Conforme a metodologia descrita por Siu et al. (1970), para determinação do glicogênio muscular as amostras foram digeridas em KOH 30% a quente e o glicogênio precipitado a partir da passagem por etanol. Entre uma fase e outra da precipitação, a amostra foi centrifugada a 1500 g durante 15 min. O glicogênio precipitado foi submetido a hidrólise ácida na presença de fenol. Para determinar a quantidade de glicose nas amostras dos tecidos utilizou-se o método enzimático colorimétrico, conforme o teste de Glicose E-Enzimática (CELM-REACTOCLIN). Os valores foram expressos em mg/100 mg de peso tecidual úmido.

5.6 Quantificação de proteinas musculares

Para determinação da concentração de proteína total muscular (gastrocnêmio), aproximadamente 300 mg das amostras foram homogeneizadas em 1mL de tampão RIPA (Tris-HCl 50 nM, pH 8.0; NaCl 150 mM; Triton X-100 1 %; CaCl2 1 mM; SDS 0,1 % e deoxicolato de sódio 1 %) e 5 µL de inibidor de protease (Sigma®). A seguir, o homogeneizado era centrifugado a 10.000 g por 15 minutos à 4 ºC. Após esse procedimento foi realizada a dosagem de proteínas totais pelo método de Bradford (Sigma® St. Louis, MO, USA), sendo o resultado expresso em ug/µL de proteína.

5.7 Quantificação de citocinas teciduais

Para determinação da concentração de citocinas no tecido adiposo, aproximadamente 300 mg das amostras foram homogeneizadas em 1 mL de tampão RIPA (Tris-HCl 50 nM, pH 8.0; NaCl 150 mM; Triton X-100 1 %; $CaCl_2$ 1 mM;

SDS 0,1 % e deoxicolato de sódio 1 %) e 5 µL de inibidor de protease (Sigma® St. Louis, MO, USA). A seguir, o homogeneizado era centrifugado a 15.000 g por 20 minutos à 4 ºC. O sobrenadante foi coletado e estocado a –80 ºC para posterior análise das citocinas (TNF-α, IL-6, IL-10) com kit de ELISA comercial (Assay Designs®, USA). Após a dosagem de proteínas totais do tecido adiposo, a quantidade de citocinas foi relativizada, sendo o resultado expresso em pg/ug de proteína. A quantificação foi realizada conforme a metodologia descrita por Lira et al. (2009).

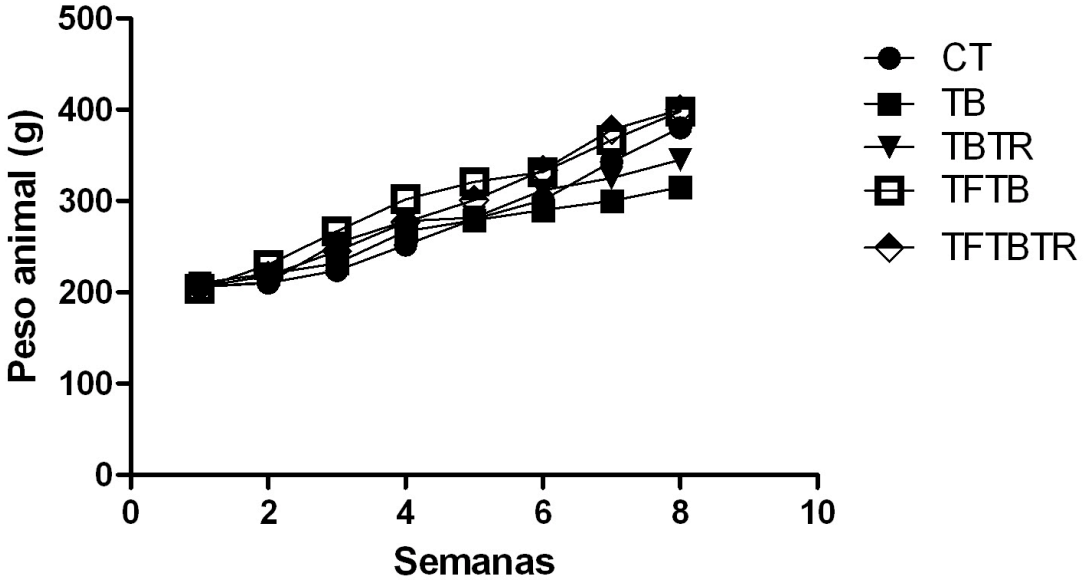
5.8 Análise estatística

A análise comparativa dos dados quantitativos está apresentada utilizando o ANOVA de duas vias ou testes não paramétricos quando necessário (Mann-Whitney U test). Para todas as análises o valor de p menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significante. O software estatístico Win Stat para Windows versão 3.1(Kalmia Co. Inc, 1991-1996) foi utilizado para análise.

6 RESULTADOS

A evolução do peso corporal dos animais foi acompanhada semanalmente durante as 8 semanas do protocolo experimental. Não foram encontradas diferenças entre os grupos experimentais, conforme ilustra a figura 6.

Figura 6. Evolução semanal de peso corporal dos grupos experimentais.



Valores em média. (n=7) (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Ao analisar o peso final dos animais e a participação da massa tumoral, os grupos que receberam a suplementação, o treinamento e a associação dos tratamentos demonstraram diferenças quando comparado ao grupo TB. Em dados percentuais, a massa tumoral do grupo TB representou 6% do peso corporal do para o grupo TB. Essa representação percentual do tumor para o grupo TBTR foi 2,5%. Nos animais submetidos ao treinamento, a massa tumoral representou 0,7% para o grupo TFTB e 0,4% para o grupo TFTBTR.

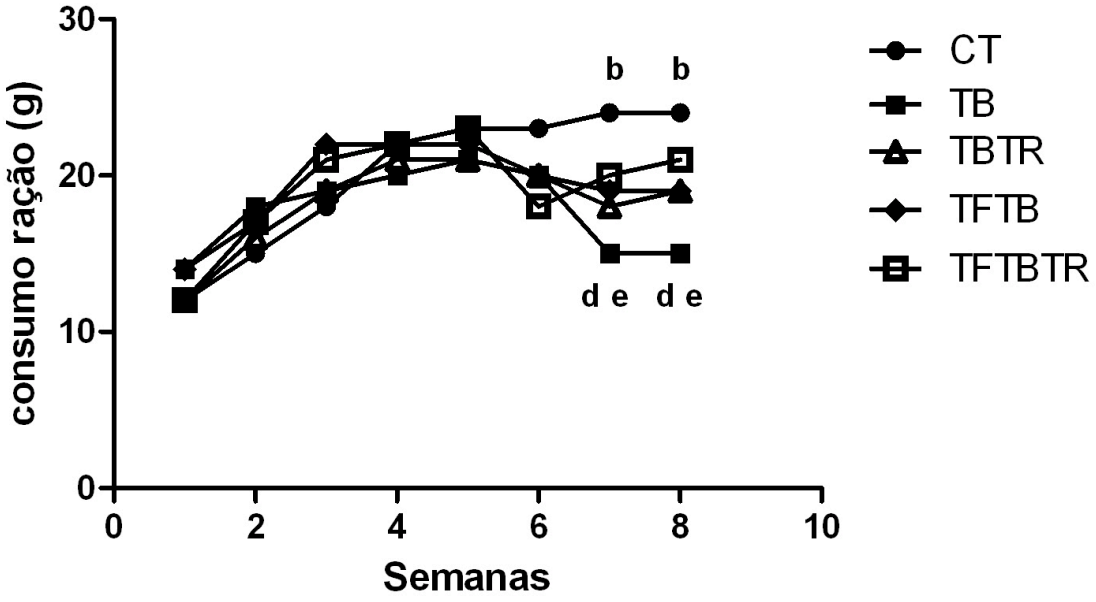
Tabela 2. Peso corporal dos grupos experimentais durante o período experimental.

Grupos	1ª. Semana peso (g)	8ª.semana peso (g)	Peso final descontado o peso do tumor (g)
CT	206,7 ± 3,2	380,2 ± 6,2	
TB	210,9 ± 1,1	315,5 ± 3,8	294,1
TBTR	206,3 ± 2,9	345,9 ± 1,8	337 [b]
TFTB	204,7 ± 6,7	398,1 ± 3,5	395 [b c]
TFTBTR	206,2 ± 2,5	400,4 ± 4,2	398,5 [b c]

Valores em média±e.p.m. (n=7) (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Com relação ao consumo de ração, houve uma redução nos grupos experimentais que receberam as células tumorais na sexta semana do protocolo experimental. O grupo TB demonstrou um menor consumo quando comparado aos grupos TBTF e TBTFTR, conforme ilustra a figura 7.

Figura 7. Consumo de ração do grupos experimentais.



Valores em média. (n=7) (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

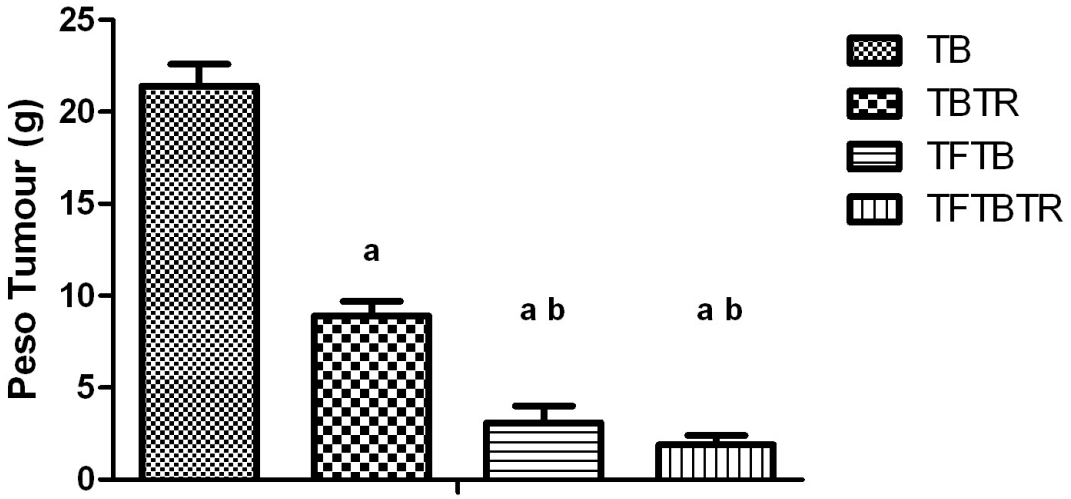
A Tabela 3 ilustra o peso tumoral dos grupos experimentais no final do protocolo apresentou diferenças estatisticamente significativas. O peso médio do tumor no grupo TB foi diferente em comparação com todos os grupos experimentais, sendo que os grupos TBTF e TBTFTR, também apresentam diferenças ($p<0,028$ e $p<0,012$, respectivamente) quando comparados com o grupo TBTR.

Tabela 3. Peso final dos tumores dos grupos experimentais.

Peso Tumor (g)	TB	TBTR	TFTB	TFTBTR
	21,4 ± 1,8	8,9 ± 1,2 ^{a}	3,1 ± 0,8 $^{a\,b}$	1,9 ± 0,3 $^{a\,b}$

Valores em média±e.p.m. (n=7) (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

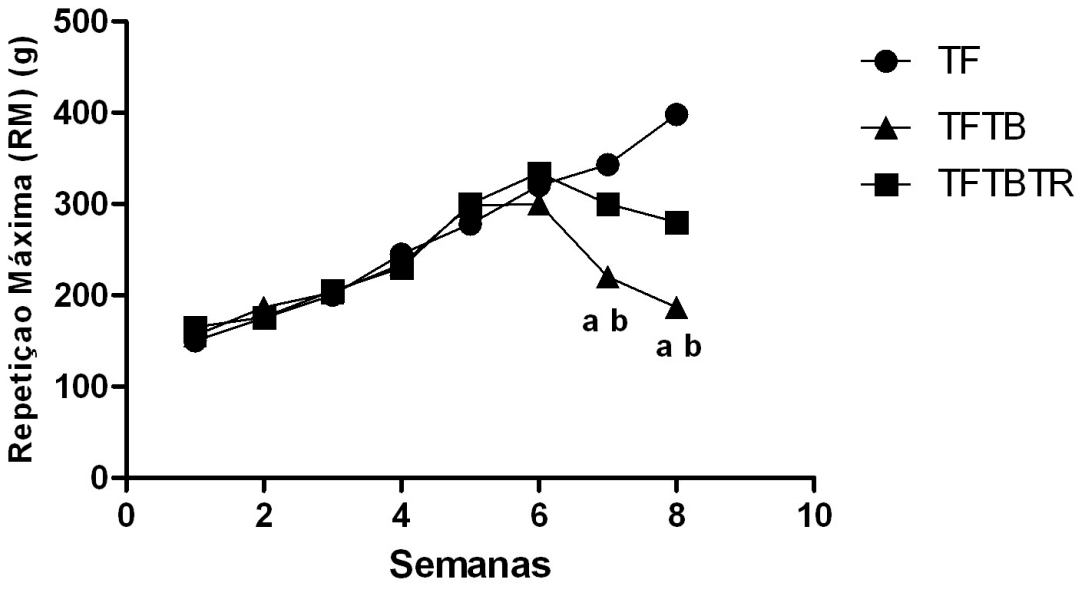
Figura 8. Peso final dos tumores do grupos experimentais



Valores em média±e.p.m. (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Nos grupos submetidos ao protocolo de exercício, foi analisada a carga máxima atingida no fim de cada semana de treinamento. É observado que após a sexta semana, os grupos TFTB e TFTBTR mostraram capacidade reduzida de suportar a carga imposta pelo protocolo de exercício, atigindo carga final de transporte inferior nas escaladas, conforme ilustra a figura 11.

Figura 11. Evolução da carga utilizada no protocolo de exercício.



Valores em média. (n=7) (TF) Treino de Força, (TFTB) Treinado com Tumor e (TFTBTR) Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$). a: comparado a TF, b: comparado a TFTB e c: comparado a TFTBTR.

A tabela 4, ilustra a evolução semanal das cargas em dados numéricos.

Tabela 4. Evolução de cargas utilizadas no protocolo de exercício experimental

Semana/Repetição Máxima (g)	TF	TFTB	TFTBTR
1ª. semana	150 ± 12	156 ± 31	165 ± 15
2ª. semana	175 ± 21	187 ± 38	176 ± 24
3ª.semana	200 ± 15	203 ± 56	205 ± 42
4ª.semana	245 ± 43	234 ± 23	230 ± 19
5ª.semana	278 ± 42	298 ± 33	300 ± 39
6ª.semana	320 ± 28	300 ± 35	334 ± 65
7ª.semana	343 ± 45	220 ± 43	300 ± 51
8ª.semana	398 ± 56	187 ± 67	280 ± 62

Valores em média±e.p.m. (n=7). (TF) Treino de Força, (TFTB) Treinado com Tumor e (TFTBTR) Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$). a: comparado a TF, b: comparado a TFTB e c: comparado a TFTBTR.

Foram dosadas as quantidades de glicogênio e proteínas totais do músculo gastrocnêmio. Tanto o grupo exercitado não submetido ao tratamento nutricional (TFTB), quanto o grupo que associou a suplementação ao exercício físico (TFTBTR) demonstraram conteúdo de glicogênio aumentado quando comparado ao grupo TB. O grupo TBTR não foi diferente de TB, conforme ilustra a tabela 5.

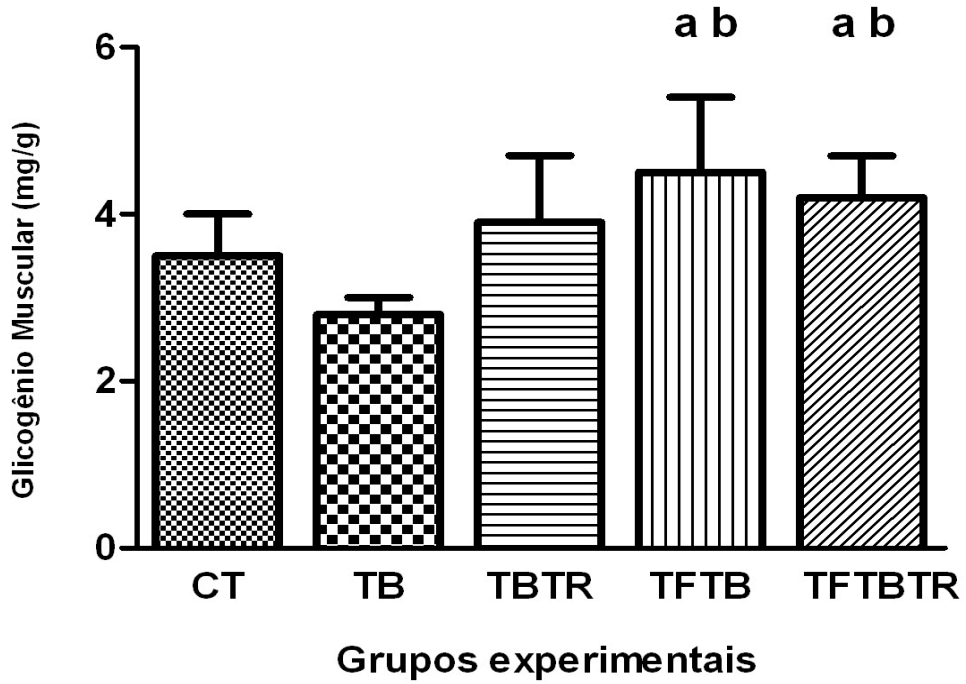
Tabela 5. Conteúdo de glicogênio e proteína do musculo gastrocnêmio.

	CT	**TB**	**TBTR**	**TFTB**	**TFTBTR**
Glicogênio Muscular (mg/g)	3,6 ± 0,2	2,8 ± 0,3	3,9 ± 0,3	4,5 ± 0,2 [ab]	4,2 ± 0,2 [ab]
Proteína muscular (ug/ul)	3,2 ± 0,1	2,7 ± 0,5	2,9 ±0,4	5,2 ± 0,5 [abc]	5,5 ± 0,1 [abc]

Valores em média±e.p.m. (n=7) (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Com relação ao glicogênio muscular, a presença do tumor causou uma redução dos estoques (figura 10). Os estoques de glicogênio dos grupos TFTB e TFTBTR estavam 37% e 35% maiores quando comparados com o grupo TB. A suplementação não causou aumento do glicogênio muscular no grupo TBTR, quando comparado a TB.

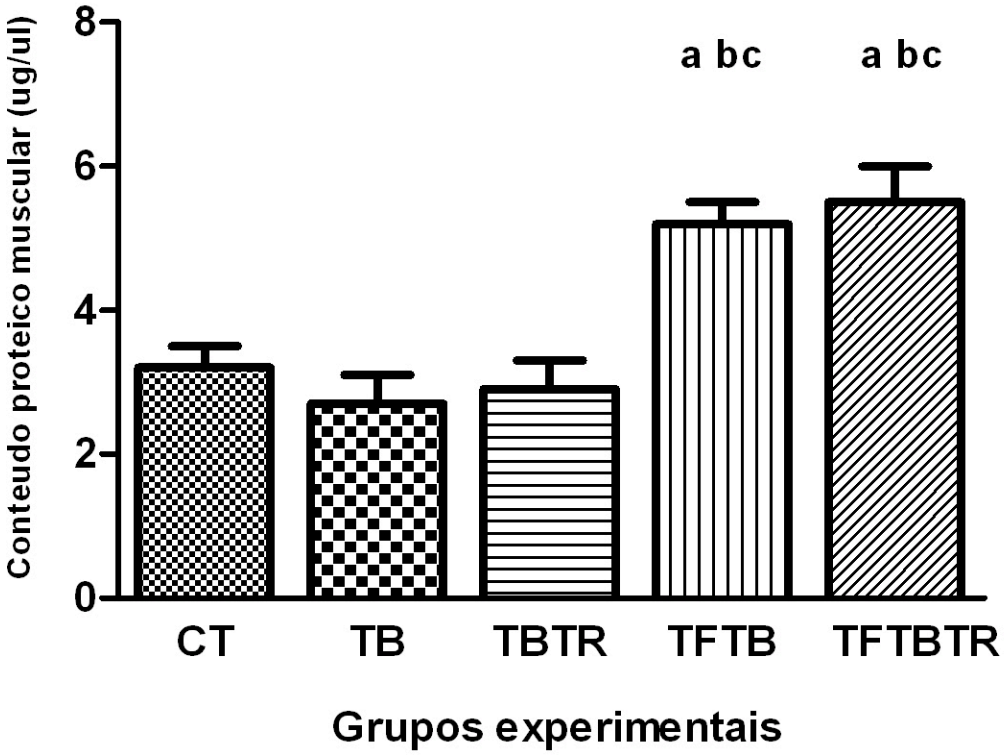
Figura10. Conteúdo de glicogênio do músculo gastrocnêmio



Valores em média±e.p.m. (n=7) (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Com relação à quantidade de proteína muscular, a presença do tumor regulou negativamente o parâmetro de proteínas musculares. Nos grupos submetidos ao exercício e à suplementação, observa-se quantidades maiores de proteínas comparados com TB, cerca de 48% e 50%, respectivamente para os grupos TFTB e TFTBTR. O grupo TBTR não houve reversão de redução de proteínas musculares, causadas pela caquexia.

Figura11. Conteúdo muscular (gastrocnêmio) de proteína.



Valores em média±e.p.m. (n=7) (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Com relação ao conteúdo de glicogênio hepático, o grupo TB exibiu os menores valores, sendo diferente dos grupos CT (48%), TFTB (41%) e TFTBTR

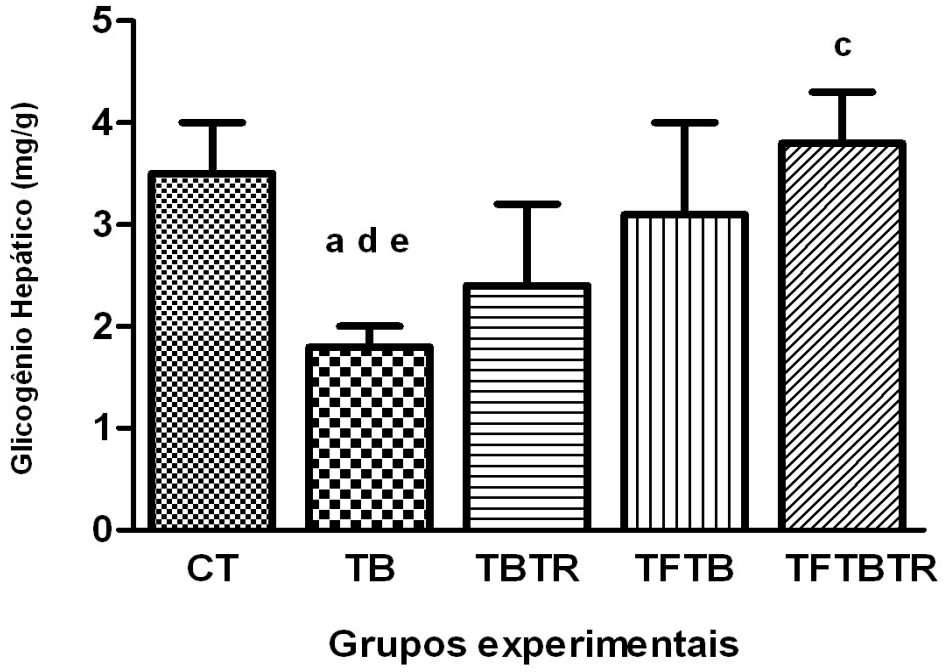
(52%). A associação dos tratamentos (TFTBTR) foi capaz de aumentar o glicogênio hepático quando comprado com o grupo TFTB em cerca de 36% , conforme ilustra a tabela 6 e a figura 12.

Tabela 6. Conteúdo de glicogênio e TAG hepático.

	CT	TB	TBTR	TFTB	TFTBTR
Glicogênio Hepático (mg/g)	3,5 ± 0,5	1,8 ± 0,2 ^{ade}	2,4 ± 0,8	3,1 ± 0,9	3,8 ± 0,5 ^{c}
TAG hepático (mg/100mg)	54,7 ± 12,1	112,9 ± 6,8 ^{a}	86,2 ± 11,9 ^{ab}	92,4 ± 9,1 ^{ab}	82,8 ±9,3 ^{ab}

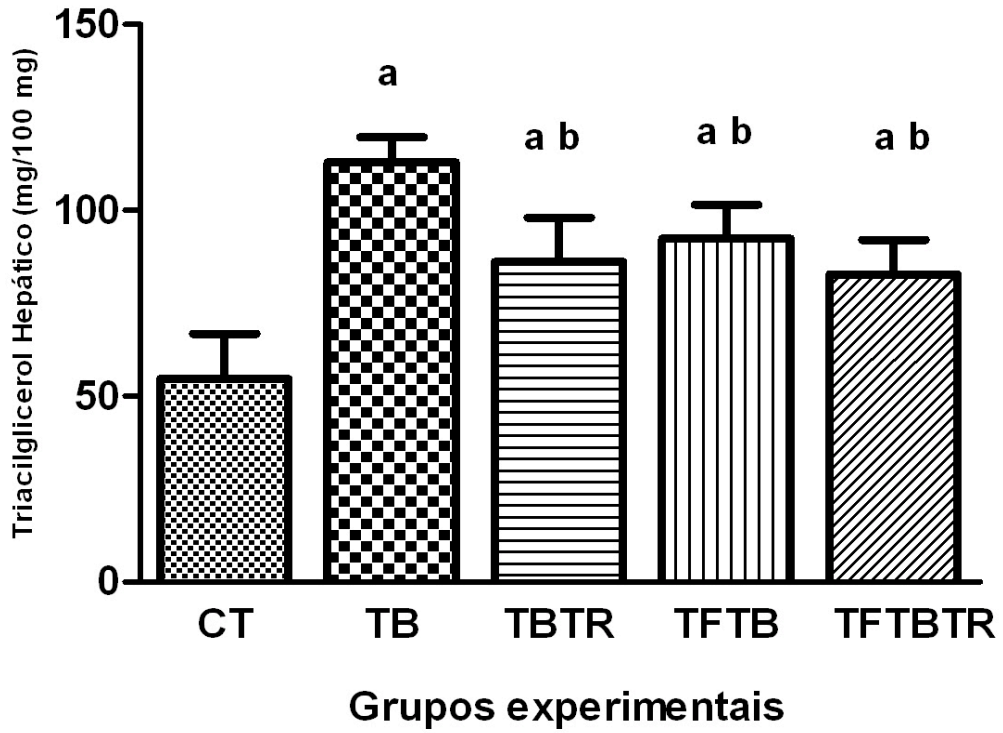
Valores em média±e.p.m. (n=7) (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados (p<0.05) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Figura 12. Concentração de glicogênio hepático dos grupos experimentais.



Valores em média±e.p.m. (n=7) (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados (p<0.05) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Figura13. Conteúdo de TAG hepático nos grupos experimentais.



Valores em média±e.p.m. (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

O grupo TB exibiu a maior concentração de TAG hepático, sendo estatisticamente diferente dos grupos TBTR(23%), TFTB (17,5%) e TFTBTR (26%). Tanto a suplementação de tributirina isolada e sua associação com o exercício de força modulam a quantidade de TAG hepático, prevenindo os efeitos da caquexia, conforme ilustra a figura 13.

Com relação aos parâmetros sanguíneos, os grupos submetidos ao exercício e à suplementação de tributirina demonstraram diferenças quando comparado com o

grupo TB, havendo diferenças estatísticas para todos os parâmetros analisados, conforme ilustra a tabela 7.

Tabela 7. Determinações bioquímicas plasmáticas do grupos experimentais.

	CT	TB	TBTR	TFTB	TFTBTR
Glicose (mg/dL)	90,5 ± 5,2	108,2 ± 7,8 [a]	98,1 ± 2,9 [b]	92,8 ± 3,4 [b]	91,9 ± 5,7 [b]
Colesterol (mg/dL)	95,2 ± 3,4	122,4 ± 10, 8 [a]	102,8 ± 8,7 [b]	90,6 ± 2,4 [b]	89,7 ± 3,7 [b]
TAG (mg/dL)	88,6 ± 2,7	137,4 ± 5,8 [a]	112,8 ± 7,1 [b]	100,4 ± 4,5 [b]	102,1 ± 9,5 [b]
VLDL-c (mg/dL)	19,2 ± 1,2	27,9 ± 6,9 [a]	21,5 ± 2,9 [b]	20,8 ± 4,9 [b]	19,5 ± 9,1 [b]
LDL-c (mg/dL)	15,9 ± 1,7	21,1 ± 9,6 [a]	17,6 ± 5,1 [b]	16,9 ± 9,1 [b]	17,2 ± 2,7 [b]
HDL-c (mg/dL)	56,1 ± 3,3	42,8 ± 8,4 [a]	49,3 ± 1,9 [b]	50,1 ± 3,9 [b]	51,9 ± 5,1 [b]

Valores em média±e.p.m. (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Tabela 8. Concentrações plasmáticas de testosterona, leptina e adiponectina.

	CT	TB	TBTR	TFTB	TFTBTR
Testosterona (ng/ml)	223 ± 12,4	198 ± 23,5 [cde]	315 ± 41,2 [de]	723 ± 32,8	672 ± 17,2
Leptina (ng/ml)	2,9 ± 0,8	2,5 ± 0,5	1,04 ± 0,4 [ab]	0,75 ± 0,2 [abc]	0,82 ± 0,1 [ab]
Adiponectina (ug/ml)	15,2 ± 7,1	10,2 ± 2,4 [a]	20,4 ± 1,6 [ab]	25,9 ± 9,2 [abc]	26,8 ± 9,8 [abc]

Valores em média±e.p.m. (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

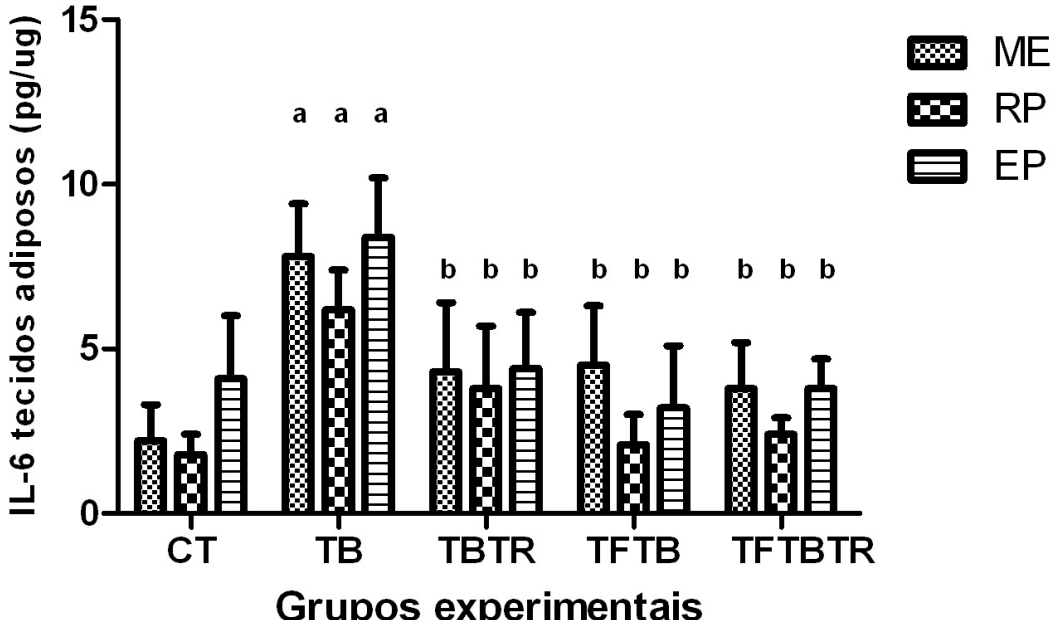
Conforme ilustra a tabela 8, o tratamento com tributirina exerceu efeitos sobre as concentrações de leptina, sendo essas 58% menores na comparação com o grupo TB. Essa redução também foi encontrada no grupo TFTB (70%) e TFTBTR (63%), quando comparadas com o grupo TB.

Para a adiponectina, observou-se maiores concentrações nos grupos TBTR (50%) , TFTB (60%) e TFTBTR (61,5%), quando comparados com o grupo TB. O grupo TBTR demonstrou menores valores de concentração de adiponectina quando comparado com TFTB e TFTBTR, 21% e 23% respectivamente.

A testosterona circulante foi maior nos grupos TBTR (37%) , TFTB (72%) e TFTBTR (70%) quando comparados ao grupo TB, demonstrando diferenças significativas. A testosterona do grupo TFTB foi maior 56% e do grupo TFTBTR 53% maior do que do grupo TBTR.

No presente estudo foi analisado o conteúdo de citocinas do tecido adiposo mesentérico, retroperitoneal e epididimal. O grupo TB demonstrou maiores concentrações de IL-6 nos 3 depósitos analisados, quando comparado ao grupo CT. A suplementação isolada, o exercício físico e a associação dos dois tratamentos foram capazes de reduzir as quantidades de IL-6 quando comparados a TB. No tecido retroperitoneal, a quantidade de IL-6 dos grupos experimentais TBTR, TFTB e TFTBTR também foi menor, quando comparada a TB. Para o tecido epididimal, houve uma redução em todos os grupos exeperimentais quando comprados a TB. Houve redução de 47% no grupo TBTR, 61% no grupo TFTB e 54% no grupo TFTBTR, conforme demonstra a figura 14.

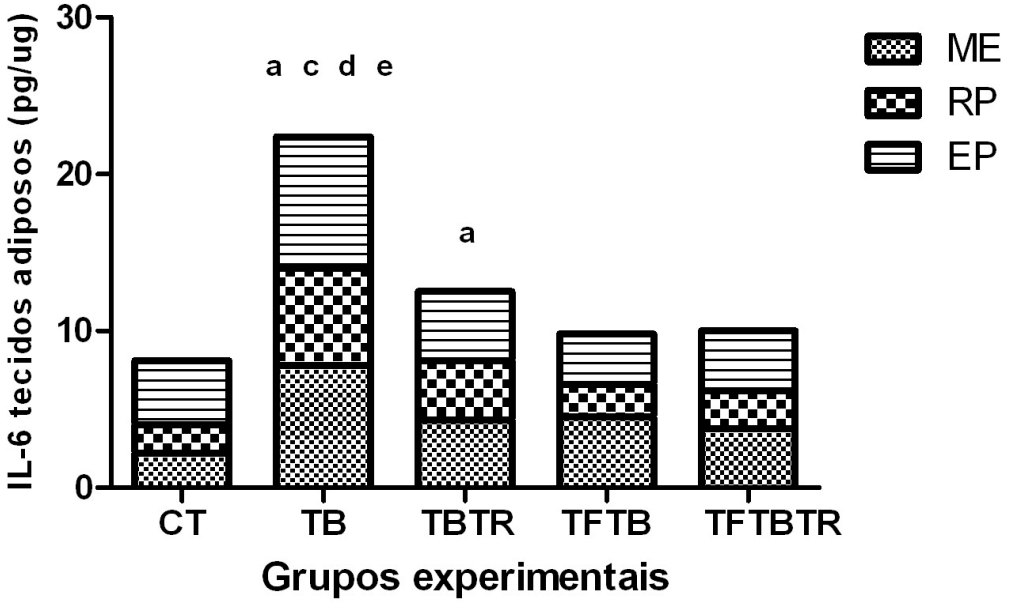
Figura 14. Concentração de IL-6 dos tecidos adiposos.



Valores em média±e.p.m. (n=7) (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

A figura 15 ilustra os resultados da somatória da concentração de IL-6 nos diferentes tecidos adiposos, sendo que o grupo TB alcançou os maiores níveis quando são considerados os 3 depósitos analisados. A suplementação de tribuirina, o exercício de força e a associação do dois tratamentos foram capazes de reduzir a concentração de de IL-6 dos tecidos.

Figura 15. Somatório da concentração de IL-6 dos tecidos adiposos em cada grupo experimental.

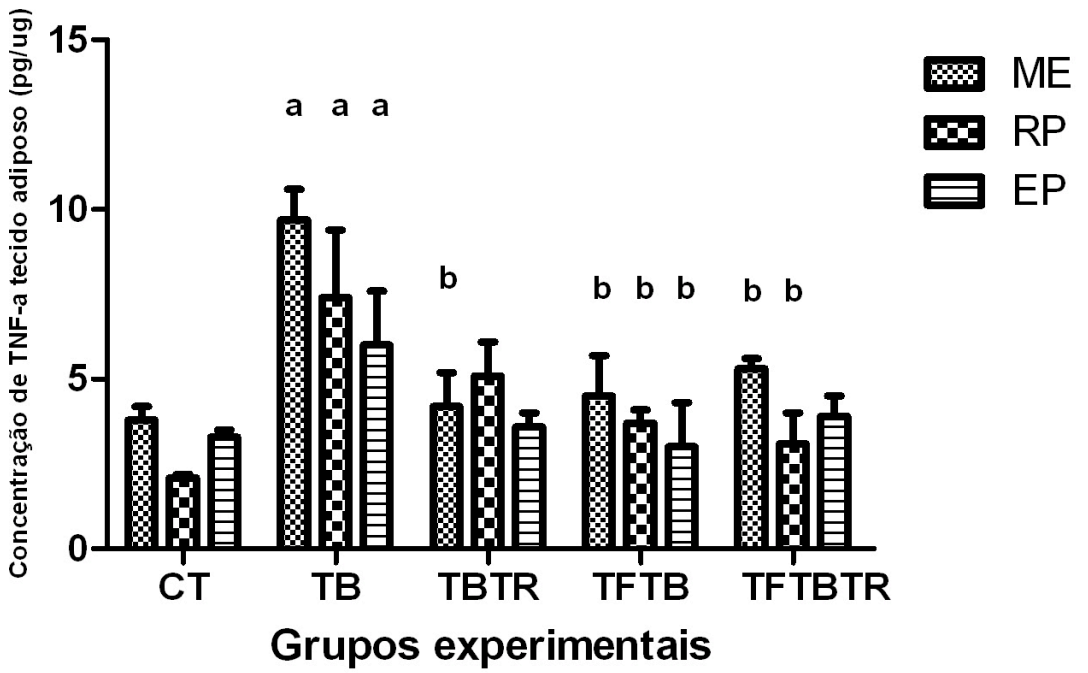


Valores em média. (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Com relação ao conteúdo de TNF-α dos tecidos adiposos, o grupo TB apresentou maior concentração em todos os depósitos, sendo 60% maior no tecido ME, 71% maior no RP e 45% maior no tecido EP quando comparado ao grupo CT. No tecido ME foram observadas diferenças entre os grupos TBTR (53% menor), TFTB (53% menor) e TFTBTR (45% menor) comparados com TB. Já no grupo TBTR não foram encontradas diferenças entre nos tecidos RP e EP, quando comparados com o grupo TB.

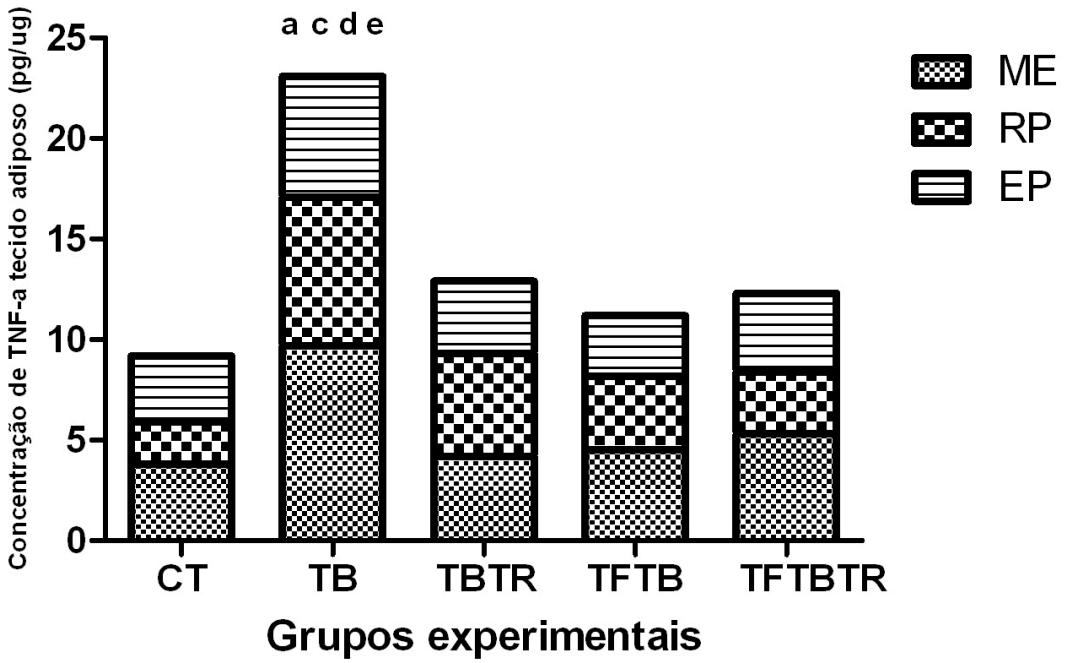
O treinamento foi capaz de reduzir as concentrações no grupo TFTB, demonstrando diferenças nos 3 depósitos quando comparado com TB. No grupo TFTBTR observou-se diferenças estatísticas no ME e RP quando comparado com TB, mas sem diferenças no EP.

Figura 16. Concentração de TNF-α dos tecidos adiposos



Valores em média±e.p.m. (n=7) (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Figura 17. Somatório da concentração TNF-α dos tecidos adiposos em cada grupo experimental.

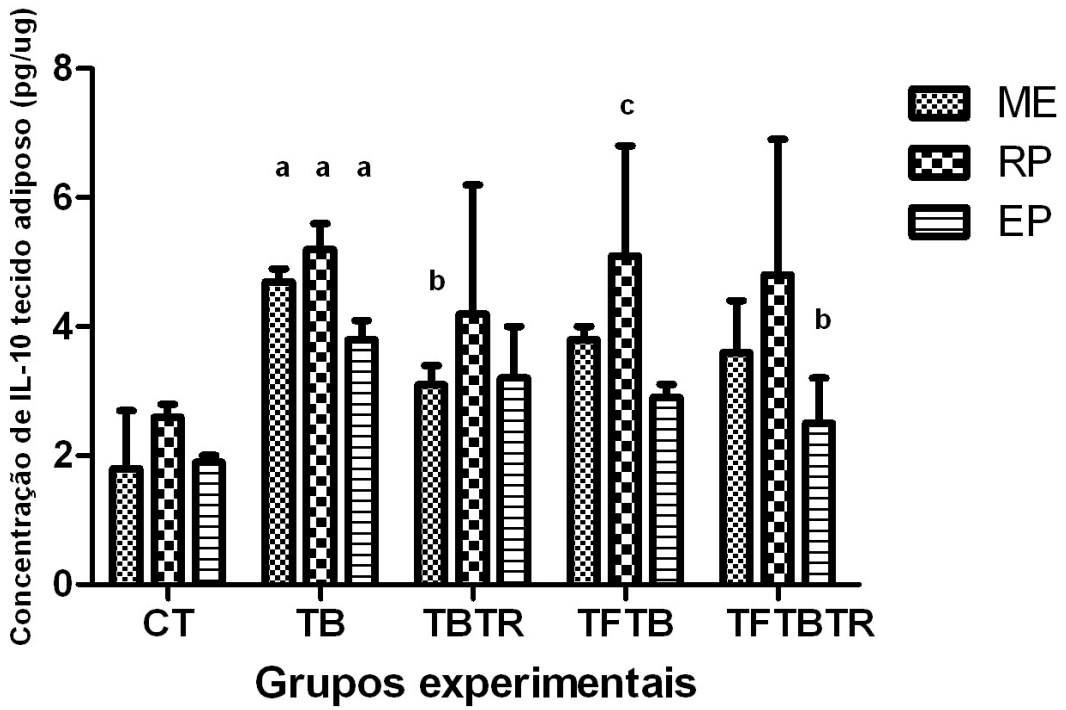


Valores em média.(CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

A figura 17 demonstra a quantidade total de TNF-α nos diferentes tecidos adiposos analisados somados e conforme os resultados apresentados, o grupo TB mostra um aumento quando comparados aos grupos CT (60%), TBTR (44%), TFTB (51%) e TFTBTR (48%).

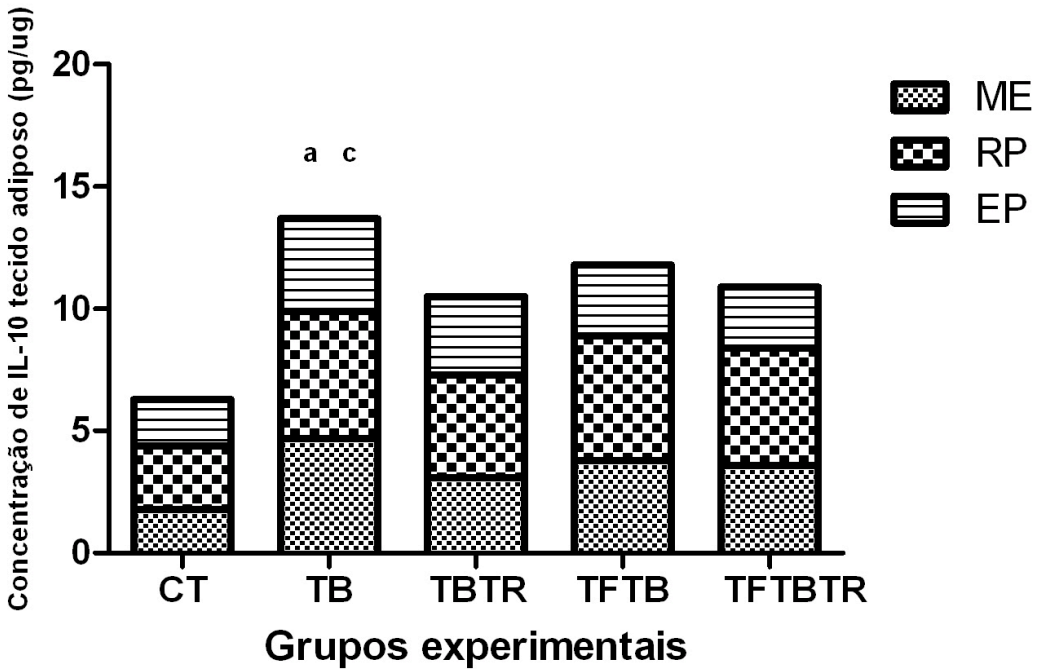
A concentração de IL-10 dos tecidos adiposos foi analisada, sendo que os resultados observados foram maiores concentrações nos tecidos do grupo TB, sendo diferentes de todos os outros grupos. No tecido ME observou-se um aumento de 61% no grupo TB versus CT. No RP temos aumento de 50% de IL-10 tecidual versus CT e no tecido EP o grupo TB exibiu 50% mais IL-10 quando comparado ao CT. No grupo TBTR houve uma redução de IL-10 significante no tecido mesentérico (34%) e no grupo TFTBTR (34%) para o tecido epididimal, quando comparado com TB. No grupo TFTB, o tecido retroperitoneal apresentou maiores concentrações de IL-10 (17%) quando comparado ao grupo TBTR, conforme ilustra a figura 18.

Figura18. Concentração de IL-10 dos tecidos adiposos.



Valores em média±e.p.m. (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

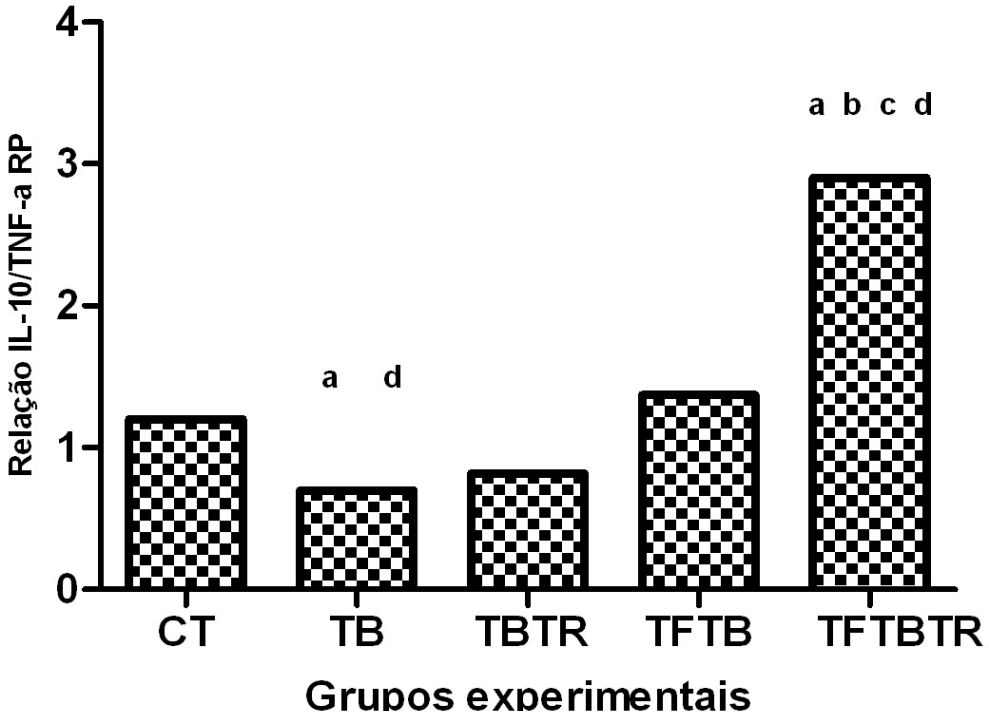
Figura 19. Somatório da concentração de IL-10 dos tecidos adiposos em cada grupo experimental.



Valores em média. (n=7) (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

A figura 19 ilustra a quantidade de IL-10 nos diferentes tecidos adiposos, e conforme os resultados apresentados o grupo TB essa foi superior, sendo diferente dos grupos CT (57%) e TBTR (28%).

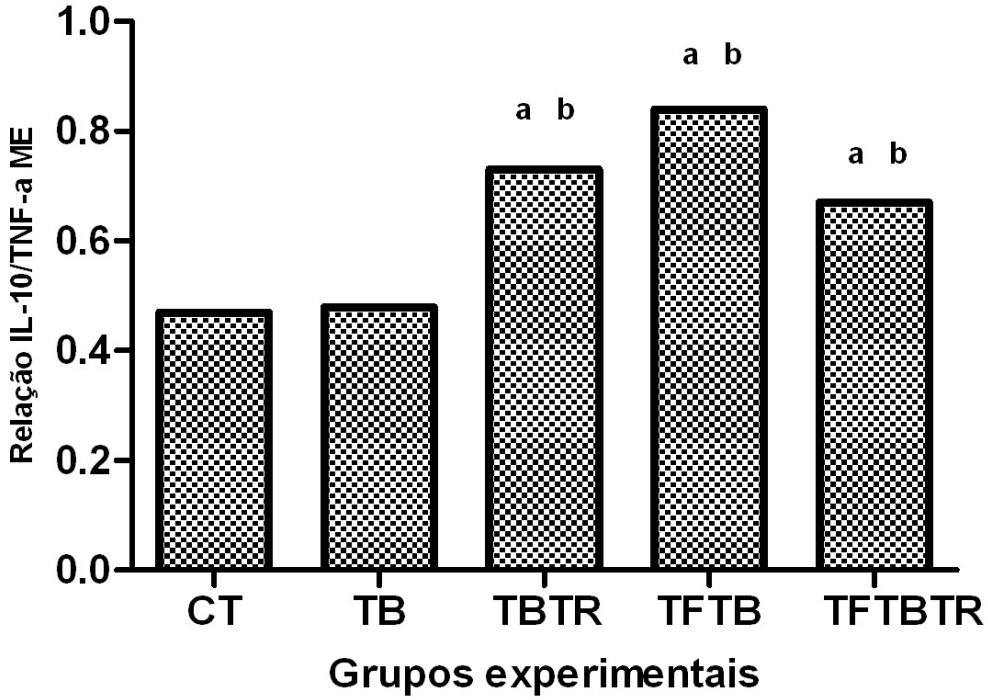
Figura 20. Razão IL-10/TNF-α no tecido adiposo retroperitoneal.



Valores em média. (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Para se avaliar o balanço da produção de citocinas do tecido adiposo RP temos a razão IL-10/TNF-a. Essa razão mostro-se reduzida, indicando um perfil mais inflamatório em TB, sendo que no grupo TFTBTR a razão foi inversa, apontando um perfil antiinflamatório.

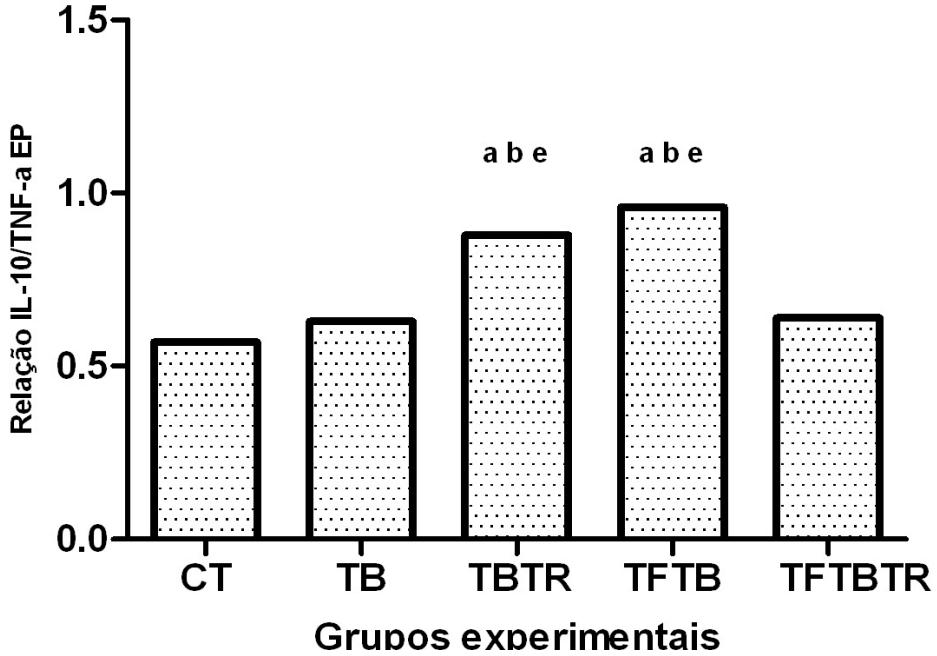
Figura 21. Razão IL-10/TNF-α no tecido adiposo mesentérico



Valores em média. (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Na razão IL-10/TNF-a, no tecido ME temos um aumento para os grupos TBTR, TFTB e TFTBTR, quando comparados com CT e TB. Não houve diferenças entre os grupos submetidos ao exercício e ou à suplementação.

Figura 22. Razão IL-10/TNF-α no tecido adiposo epididimal.

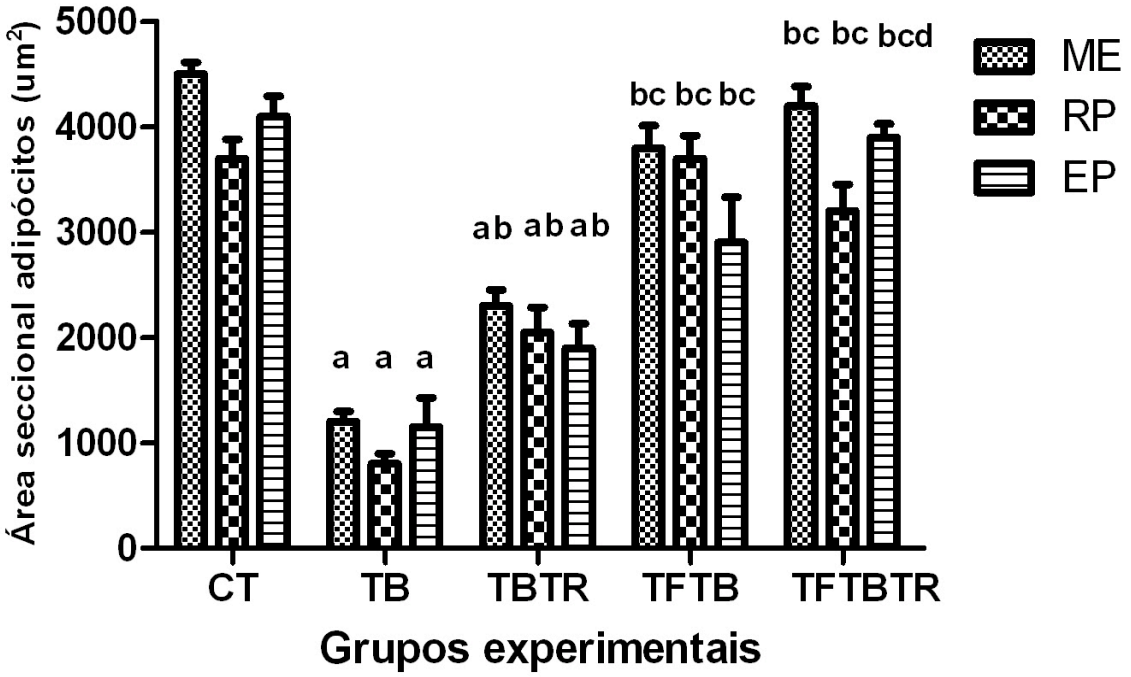


Valores em média. (n=7) (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

No tecido EP, a razão IL-10/TNF-a encontrou-se aumentada em TBTR e TFTB, sendo diferente de CT, TB e TFTBTR.

Com relação à análise morfológica do tecido adiposo, o tamanho da área seccional foi avaliado, sendo os valores expressos em μm^2. De um modo geral, o grupo TB apresentou uma menor área nos 3 tecidos analisados, bem como o grupo TBTR também apresentou redução quando comparado com CT, TFTB, TFTBTR. No tecido EP do grupo TFTBTR foi maior que o do grupo TFTB, havendo uma diferença, conforme ilustra a figura 22.

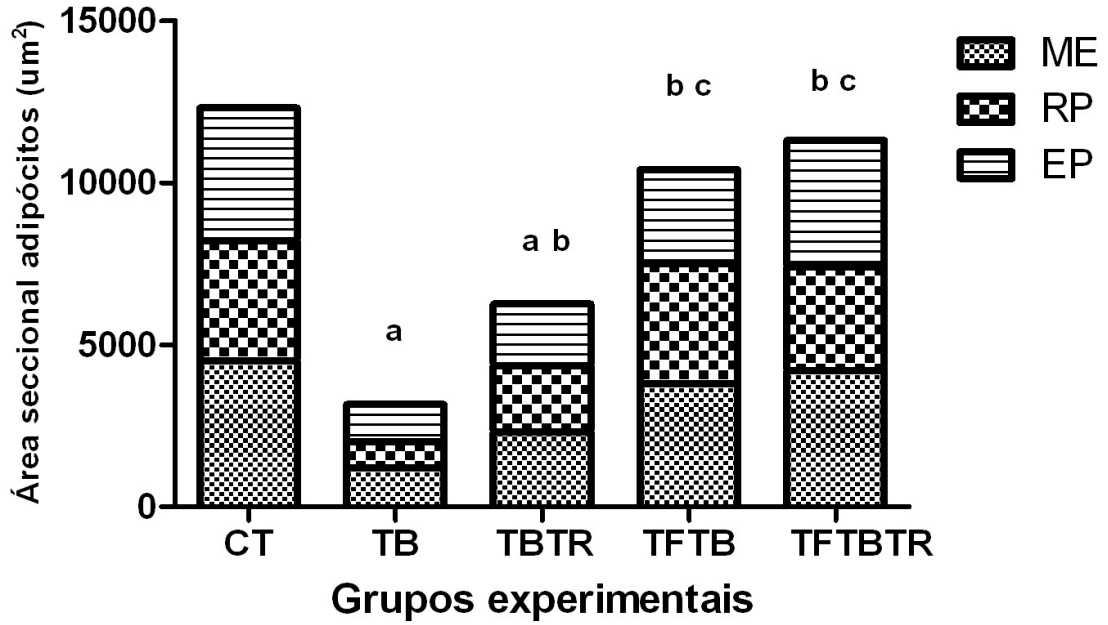
Figura 23. Área seccional dos adipócitos dos tecidos adiposos analisados.



Valores em média±e.p.m. (n=7) (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

O grupo TB demonstrou uma redução de 72% na somatória da área seccional dos adipócitos. O grupo TBTR demonstrou redução de 55% na comparação com CT, redução de 34% quando comparado a TFTB e redução de 37% da área quando comparado a TFTBTR. Não houve diferenças entre os grupos CT, TFTB e TFTBTR.

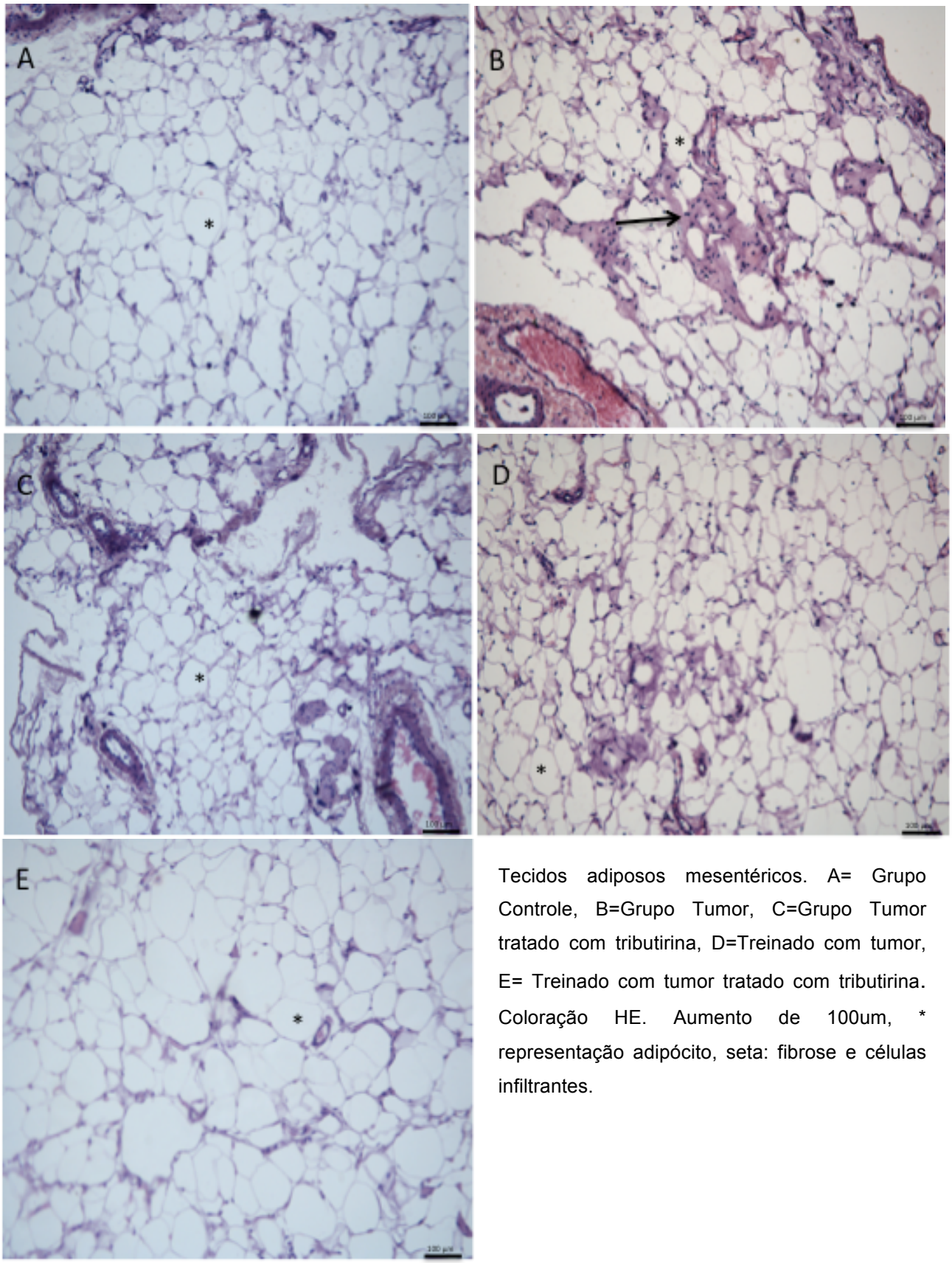
Figura 24. Somatória da área dos adipócitos dos tecidos adiposos dos grupos experimentais



Valores em média. (n=7) (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Nos resultados relacionado à morfologia dos adipócitos, temos como exemplo de mudança característica da caquexia, o tecido mesentérico que mais evidencía os efeitos da síndrome em roedores. É observada uma redução do tamanho dos adipócitos do grupo TB e também um aumento da expressão de colágeno e células infiltrantes (seta preta figura B). Enquanto que no grupo CT (figura A) temos uma morfologia normal para os adipócitos. As figuras C, D, E exibem os grupos TBTR, TFTB e TFTBTR respectivamente, sendo observado mudanças menos evidentes do processo da caquexia no tecido adiposo.

Figura 25. Histologia do tecido adiposo mesentérico dos grupos experimentais.



Tecidos adiposos mesentéricos. A= Grupo Controle, B=Grupo Tumor, C=Grupo Tumor tratado com tributirina, D=Treinado com tumor, E= Treinado com tumor tratado com tributirina. Coloração HE. Aumento de 100um, * representação adipócito, seta: fibrose e células infiltrantes.

7 DISCUSSÃO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos fisiológicos de um protocolo experimental de treinamento de força e da suplementação de tributirina sobre o processo inflamatório envolvidos na caquexia associada ao câncer em animais inoculados com tumor de Walker 256. Em humanos, existem dados científicos demonstrando que o processo inflamatório crônico instalado é considerado um denominador das consequências metabólicas da caquexia associada ao câncer (SEELANDER et al., 2012). Mas para se aplicar metodologias de tratamento neste tipo de população é necessário primeiro se conhecer os efeitos fisiológicos e mecanismos propostos no modelo experimental em animais, para após isso, propor estratégias para o tratamento dos pacientes.

O tumor de Walker 256 adotado no modelo experimental impõe classicamente efeitos como: diminuição da ingestão alimentar, aumento de lipídios plasmáticos, esteatose hepática e marcadamente a inflamação dos tecidos adiposos Estes efeitos são encontrados aproximadamente 10 a 14 dias depois da inoculação tumoral nos animais e são típicos da caquexia associada ao câncer humano (FERNANDES et al., 1990; MACHADO et al., 2004; KAZANTIS; SEELAENDER, 2005).

A maior dificuldade encontrada para o protocolo de exercício utilizado foi padronizar a intensidade, pois sem esta validação, não seriam atingidos os efeitos fisiológicos esperados pelo exercício físico de força (DONATTO et al., 2013). Assim foi utilizado um grupo de animais treinados sem a presença do tumor para se comparar os efeitos da presença tumoral durante o treinamento. Observou-se ganhos similares de força ao longo das primeiras 6 semanas de treinamento, porém após a inoculação das células tumorais nos respectivos grupos, foi observada uma queda de performance nas escaladas do animais na escada. De certa forma, esse efeitos já eram esperados a administração das células tumorais. Entretanto, isso não incapacitou os animais à continuação do protocolo de treinamento, porém as cargas utilizadas foram estatisticamente menores quando comparado com o grupo TF.

Com relação aos resultados e peso ponderal, não houve diferenças entre os grupos experimentais. Com relação ao tamanho dos tumores dos grupos experimentais, foi observado, que a suplementação de tributirina, o exercício de força e a associação dos tratamentos conseguiram reduzir o peso final do tumor. A redução tumoral foi observada também em outros trabalhos do grupo de pesquisa

(BACURAU, et al., 2000; LIRA et al., 2009; LIRA et al., 2010). Donatto et al. (2013) demonstraram melhor razão IL-10/TNF-α nos tecidos adiposos mesentéricos de ratos inoculados com células de Walker 256.

Provavelmente o balanço mais favorável de citocinas promovido pelos protocolos de exercício físico e seus efeitos antiinflamatórios tem relação com o desenvolvimento tumoral, e somado aos efeitos antitumorais da tributirina que são bem documentados e tem como alvo a inibição da enzima histona deacetilase (HDCA) e o NFκB (DRUMMOND et al., 2005; GIERMASZ et al., 2001; MAIER et al., 2000; SHEPPARD et al., 2004; VINOLO et al., 2011). Especula-se que esses efeitos podem explicar os resultados obtidos nos grupos que receberam a tributirina TBTR E TFTBTR, pois demonstraram menores quantidades de massa tumoral quando comparado com o grupo TB.

O perfil plasmático mostra-se um bom marcador bioquímico para entender as mudanças metabólicas ocorridas na caquexia associada ao câncer, sendo que o aumento de triacilglicerol circulante (hipertriglicidemia) é um dos marcadores plasmáticos utilizados no diagnóstico e classificação da caquexia (ARGILÉS et al., 2012; FEARON et al., 2011). Nos grupos experimentais foram observados mudanças plasmáticas significativas nos grupos submetidos ao exercício e a suplementação de tributirina, quando comparado ao grupo TB para todos os parametros analisados, demonstrando o efeito sistêmico dos tratamentos.

Umas das explicações mais abrangentes é que a redução do processo inflamatório sistêmico resulta em uma melhor função hepática e muscular, que podem influenciar diretamente nos valores de nutrientes plasmáticos. Outro mecanismo seria o de sensibilizar o tecido muscular ao hormônio insulina que pode diretamente agir no melhor controle glicêmico (PEDERSEN et al., 2007).

O acúmulo de lipídios hepáticos (esteatose) podem causar um processo inflamatório, influenciando fatores de transcrição gênica como a proteína ligadora responsiva a carboidratos (ChREBP) e o receptor de proliferador de peroxissomos (PPARs) (IIZUKA, 2013), podendo influenciar em mecanismos lipogênicos, agravando o quadro inflamatório.

Especialmente no modelo utilizado, Kazantis e Seelaender (2005), demonstraram que a caquexia afeta o metabolismo hepático de lipídios, principalmente com o complexo enzimático da carnitina palmitoil transferase (CPT) e proteínas hepáticas de ligação de ácidos graxos (L-FABP) relacionadas no

transporte citosólico de lipídios, contribuindo na menor oxidação lipídica. Outro fator importante é que em estados pró-inflamatórios, a beta-oxidação hepática se encontra reduzida, através da redução da atividade de enzima mitocondriais, contribuindo para o maior acúmulo de gordura hepática (TAVARES; SEELAENDER, 2008).

Nos resultados encontrados para o fígado, observou-se uma maior quantidade TAG depositado nos grupos TB, diferente dos grupos tratados com tributina e submetidos ao protocolo de exercício e associação dos dois tratamentos, ao passo que os valores de glicogênio encontrados foram menores no grupo TB, quando comparado com TBTR, TFTB e TFTBTR, demonstrando mudanças nos reservatórios energéticos hepáticos.

O exercício físico, dependendo do tipo e intensidade, modula a produção de lipoproteínas hepáticas (LIRA et al., 2012). Além disso, Lira et al. (2008), demonstraram que o exercício aeróbio pode diminuir as concentrações de prostaglandina E2 (PGE2) no fígado de animais portadores do tumor de Walker 256. Assim, os resultados demonstram que a suplementação de tributirina e o exercício de força, possivelmente influenciaram de forma positiva a modulação gênica hepática com resultados sobre a quantidade de TAG plasmático, valores de glicose e lipoproteínas hepáticas como LDL-c, VLDL-c e HDL-c.

Por outro lado, a suplementação de tributirina se mostrou eficaz na redução da quantidade de lipídios plasmáticos dos grupos experimentais, bem como uma menor agregação de lipídios hepáticos. Esses resultados podem ser apontados pelo efeito antiinflamatório do butirato em sua absorção hepática. Vinolo et al. (2012), demonstraram que camundongos que receberam uma dieta rica em lipídios e foram suplementados com tributirina, tiveram uma redução da resistência à insulina. Estes mecanismos podem ser explicados pelo efeito anti-inflamatório do ácido graxo butirato (VINOLO et al., 2011), via redução de citocinas pró-inflamatórias secretadas por células do sistema imune e de modulação de proteínas quimioatraentes de monócitos1 (MCP-1), agente quimiotáxico para células do sistema imune.

As maiores reservas energéticas encontradas no fígado são as de glicogênio, sendo este combustível determinante para disponibilizar glicose à circulação sistêmica em momento de necessidade de ajuste da glicemia. Quando observada as quantidades dos grupos experimentais, vê-se uma redução significativa nos depósitos do grupo TB, ao passo que os grupos TFTB e TFTBTR demonstraram

recuperação dos estoques de glicogênio hepático. A influência do exercício físico nos níveis de glicogênio hepático foi observada na diferença entre o grupo TBTR que apresentou menores valores quando comparado com o grupo TFTBTR.

O metabolismo de glicogênio é grandemente regulado pelas enzimas glicogênio sintase e glicogênio fosforilase (PILEGAARD et al., 2002). Lavoie et al. (2002) apontam importantes efeitos do exercício físico sobre o metabolismo hepático de glicogênio, que modulam diretamente fatores como a proteína de ligação do insuline growth fator 1 (IGFBP-1), agindo nos níveis de glicogênio durante o exercício físico. Outro fator importante é o efeito do exercício sobre o mecanismo da esteatose hepática, podendo melhor com o auxílio em conjunto do tratamento dietoterápico (CHAPADOS et al., 2009; LAVOIE et al., 2009).

Foi analisado no músculo gastrocnêmio, a quantidade de glicogênio e de proteínas totais. Verificou-se maiores quantidade de glicogênio muscular nos grupos submetidos ao exercício, TFTB e TFTBTR. Isso é explicado pelos efeitos fisiológicos do exercício de força sobre os níveis de glicogênio muscular, modificando a atividade e quantidade de enzimas como a glicogênio sintase (DONATTO et al., 2010; PRESTES et al., 2012), bem como a maior captação de glicose para os músculos exercitados (YASPELKIS et al., 2002).

Em relação ao conteúdo de proteínas musculares, novamente os grupos submetidos ao exercício físico demonstraram maiores concentrações, quando comparados com os grupos CT e TB. Esse efeito pode ser explicado pelo efeito anticatabólico do exercício de força em uma situação pro-inflamatória como a caquexia associada ao câncer, uma vez que o balanço entre anabolismo e catabolismo é afetado nessa síndrome. O exercício de força tem efeitos diretos sobre os mecanismo de síntese proteica muscular, sendo que a via intracelular de fosforilação do o alvo de rapamicina mamífero (MTor) é a mais influenciada pelo efeito mediado pelo mecano growth factor (MGF) promovido pelas microlesões causadas durante o exercício (ZANCHI;LANCHA Jr, 2008). Zanchi et al. (2009), discutiram influências do treinamento de força crônico na modificação de atrogenes associados à sarcopenia. A partir destes resultados, propõe-se futuramente escolher esses entre as vias moleculares associada a síntese proteica, principalemente aquelas que envolvam o MTor e as E3 ligases do sistema ubiquitina-proteassoma, Atrogin-1 e MuRF-1, para conhecer o mecanismo deste protocolo experimental com câncer e treinamento de força.

O tecido adiposo vem recebendo maior atenção dos pesquisadores, após sua descoberta como importante contribuindo para o processo inflamatório da caquexia, pois este tecido possui a capacidade de produção e secreção de proteínas moduladoras, reconhecidas como adipocinas (UNGER, 2003). A caquexia associada ao câncer afeta a concentração plasmática de vários hormônios, incluindo a leptina, pois é um hormônio derivado dos tecidos adiposos (FEARON et al., 2011).

A leptina caracteriza-se como um hormônio polipeptídeo, expresso principalmente por adipócitos, tanto de seres humanos quanto em roedores, e atua como um fator de comunicação entre o tecido adiposo e o sistema nervoso central, regulando a ingestão alimentar, o gasto energético e, consequentemente, a massa corporal (MARTI et al., 1999). Machado, Costa Rosa, Seelaender (2004) encontraram relação com a infiltração de células mononucleares e uma menor quantidade de leptina nos tecidos adiposos e Lira et al. (2011) também demonstraram redução da expressão gênica de leptina nos adipócitos em ratos inoculados com tumor de Walker 256, porém não avaliou-se os níveis hormonais plasmáticos.

O presente trabalho avaliou apenas a concentração plasmática da leptina, porém não a quantificamos nos tecidos adiposos, e isso dificulta a comparação com os trabalhos citados. Uma das explicações pelo efeito encontrado no presente trabalho é que na compilação dos dados após a eutanásia dos animais, foram observadas reduções nas quantidades totais dos 3 tecidos adiposos analisados, o que pode explicar as menores concentração plasmáticas dos grupos TBTR, TFTB e TFTBTR. Mais experimentos com esse objetivo precisam ser realizados, para se conhecer se a expressão e produção de leptina têm relação com o tratamento com tributirina e o treinamento de força.

A adiponectina é uma adipocina produzida exclusivamente pelos adipócitos de humanos, macacos e ratos, e está envolvida na resposta inflamatória e regulação do balanço energético, desenvolvendo um papel anorexígeno e anti-inflamatório (RONTI et al., 2006). No presente trabalho foi observado aumento expressivo das concentrações de adiponectina plasmática nos grupos TBTR, TFTB e TFTBTR.

A adiponectina uma adipocina de efeitos antinflamatório, inibindo a produção de TNF-α. Adicionalmente, a adiponectina estimula a maior expressão de IL-10 (LIHN et al., 2005). Quando se relaciona as concentrações teciduais de IL-10 e TNF-α nos grupos TB e se compara com as concentrações plasmáticas de adiponectina,

observa-se um possível efeito pró-inflamatório, pois existe uma menor quantidade de adiponectina circulante e uma maior quantidade de TNF-α tecidual. Desta forma, pode-se colocar que o protocolo de exercício de força e a suplementação de tributirina conseguiram modular as concentrações de adiponectina, o que pode ter contribuido para o melhor estado metabólico dos animais, com a redução da inflamação.

O hormônio testosterona é produzido pelas células de Leydig nos testículos dos mamíferos. Esta produção é mediada por hormônios produzidos pela hipófise, sendo o hormônio luteinizante (LH) e o folículo estimulante (FSH) os principais. Nos testículos, o LH atua nas células de Leydig estimulando a produção hormonal (GUYTON, 2002).

Com o desenvolvimento do tumor se observa mudanças hormonais marcadas, dentre elas, a diminuição dos níveis de testosterona circulantes, havendo um hipogonadismo associado ao câncer (WIREN et al., 2007). Os resultados demontram essa queda nos grupos TB e TBTR, quando comparados com os grupos exercitados, sendo que os níveis circulantes de testosterona se encontrava 72% maior para o grupo TFTB e 70% maior para o grupo TFTBTR, na comparação com o grupo TB.

Pela regulação hormonal fisiológica, temos um eixo neuro endócrino responsável pela manutenção de testosterona circulante e isso pode ter influenciado os grupos que receberam as células tumorais. O efeito agudo do exercício fisico pode manipular a atividade de enzimas como a 5 alfa redutases e a concentração de receptores androgênicos (AIZAWA et al., 2010), melhorando a resposta muscular ao hormônio testosterona.

Desta forma, os tecidos músculares esqueléticos podem absorver o hormônio circulante, que por sua vez consegue agir em suas funções anabólicas e de reparação tecidual. O que corrobora com os achados nas quantidades de proteina total maiores nos grupos submetidos ao exercício fisico.

O grupo de pesquisa da Profa. Marília Seelaender desenvolve pesquisas com um modelo experimental de caquexia associada ao cancer focando principalmente o tecido adiposo e suas mudanças morfológicas e moleculares ao longo do desenvolvimento desta síndrome, sendo considerada uma referência mundial nesta linha de pesquisa.

O modelo experimental usado no laboratório já é bem documentado na literatura (MACHADO; COSTA ROSA; SEELAENDER, 2004; SEELANDER et al., 1996; LIRA et al., 2009), sendo que a inovação foi o uso de um protocolo de exercício diferente ao modelo aeróbio já existente (LIRA et al., 2008; LIRA et al., 2009) e uma suplementação nunca testada no laboratório.

O foco dos trabalhos prévios era analisar o efeito do exercício físico sobre parâmetros da caquexia, principalmente o comportamento do tecido adiposo neste processo. O tecido é afetado intensamente, modificando sua morfologia e os estoques de TAG (BERTEVELO; SEELAENDER, 2001), havendo mudanças na expressão e produção de adipocinas e aumento de células infiltrantes (TISDALE, 2005).

No presente tabalho foi observado um perfil fortemente inflamatório nos grupos TB, pois apresentam maiores concentrações teciduais de IL-6 e TNF-a, estas que por sua vez desencadeiam uma ação pleiotrófica, estimulando cada vez mais a infiltração de células dos sistema imune, agravando o quadro inflamatório. Por se tratar de diferentes depósitos, cada tecido adiposo responde de forma heterogênea à caquexia associada ao câncer (BERTEVELLO; SEELANDER, 2001). Desta forma, tem-se adotado a usado a relação IL-10/TNF-a como um marcador da intensidade do processo inflamatório. Sendo que quanto maior essa relação, menor é o processo inflamatório mediado por TNF-a (BATISTA Jr., 2007). Observou-se que a relação é maior nos grupos TBTR, TFTB e TFTBTR nos tecidos adiposos.

Rosa Neto et al. (2009), demonstraram um efeito pró-inflamatório a partir da relação IL-10/TNF-a nos tecidos adiposos mesentéricos e retroperitoneais de animais submetidos a uma teste incremental de esteira até a exaustão, porém o modelo de exercício físico foi agudo, sendo que os animais foram adaptados em 4 dias e no quinto dia foram submetidos ao teste até a exaustão. Com certeza, esses resultado não pode ser comparado com o modelo crônico. O efeito do exercício aeróbio sobre a citocinas teciduais foi estudado por Lira et al.(2008), que relatam um efeito antiinflamatório nos grupos submetidos ao exercício físico aeróbio em um protocolo crônico.

No presente trabalho também se observou esse efeito antiinflamatório, principalmente nos depósitos mesentéricos, só que com o modelo de treinamento de força, o qual nunca fora estudado em conjunto com as células tumorais de Walker 256. Trinchieri (2012), em uma revisão sobre inflamação e câncer postula que a

razão IL-10/TNF-a pode ser usada como parâmetro para conhecer o balanço anti ou pró-inflamatório de tecidos específicos. Revisões anteriores como as de Lira et al. (2009), já apresentavam a proposta de usar a razão IL-10/TNF-a para o modelo experimental da caquexia associada ao câncer.

Visando padronizar a forma de apresentar os dados, foi expressa a razão IL-10/TNF-α dos 3 depósitos analisados, sendo que em todos eles, o grupo TB demonsstrou redução da relação, apresentando assim um balanço mais pró-inflamatório. Em contrapartida, foi observado diferenças estatísticas nos grupos TFTB e TFTBTR nos tecidos adiposos mesentéricos e retroperitoneal, demonstrando uma influência positiva no balanço de citocinas. Estes resultados são os mesmo de Donatto et al. (2013) que demonstraram menores valores das citocinas pró-inflamatórias TNF-α e IL-6 e melhor razão IL-10/TNF-α no tecidos adiposo mesentérico em animais portadores de tumor que foram submetidos ao um protocolo experimental de força durante 8 semanas.

Finalmente, ao analisarmos a morfologia e histologia do tecido adiposo, temos uma mudança em relação à área de secção transversa dos adipócitos, pois os grupos TB e TBTR mostraram os menores valores em comparação com CT e TFTB TFTBTR, bem como mudanças morfológicas, com a presença de pontos concentrados de fibrose e células infiltrantes. Estes efeitos típicos da caquexia sobre esse tecido já haviam mostrados em trabalhos prévios (MACHADO; COSTA ROSA; SEELAENDER, 2004).

Em recente publicação, Batista Jr et al. (2012) avaliaram durante 14 dias, nos momentos 0, 7, 14 dias, o processo de mudança morfológica e de expressão de genes relacionados no tecido adiposo no progresso da caquexia, demonstrando robustas mudanças em proteínas como perilipinas, marcadores de monócitos f4/80 e, ainda, que o tecido adiposo mesentérico é o que resiste às mudanças morfológicas impostas pela caquexia.

No presente trabalho, o resultado obtido considerando secção transversa de todos os depósitos analisados, mostra uma manutenção da morfologia do adipócito nos grupos TFTB e TFTBTR, em comparação aos grupos TB e TBTR, porém a explicação para essa observação deve estar relacionada com todos os resultados apresentados, pois o balanço inflamatório é influenciado pelas concentrações de lipídios plasmáticos, por citocinas e hormônios plasmáticos que por sua vez possui efeitos teciduais. Assim, exercício físico e suplementação de tributirina

demonstraram efeitos positivos na maioria dos parâmetros estudados. Os mecanismos que induzem os efeitos benéficos destes 2 tratamentos, devem ser, contudo, melhor estudados.

A avaliação tecidual tumoral não foi o objetivo do presente trabalho, mas especula-se que um dos efeitos do exercício físico seria de modular a produção de citocinas musculares (miocinas), dentre elas a oncostatina M (OSM), ativando diretamente a via das caspases, responsáveis pela apoptose celular (HOJMAN et al., 2011). Outro mecanismo que pode estar associado a redução do tamanho tumoral é a modulação do fator de crescimento vascular (VEGF), que quando suprimido no tumor pode diminuir a chegada de nutrientes para as células neoplásicas (VERMA et al., 2009). Porém mais estudos com o modelo e as miocinas devem ser realizados para saber se existe tal relação com o tumor de Walker 256.

8 CONCLUSÕES

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da administração oral de tributirina e do treinamento de força sobre a inflamação da caquexia em ratos inoculados com o tumor Walker 256. Conclui-se que tanto a suplementação de tributirina e o protocolo de exercício utilizados conseguiram melhorar a situação metabólica do animais estudados, diminuindo os efeitos deletérios associados a caquexia, sendo observado efeitos benéficos no perfil lipídico e hormonal, no balanço de citocinas antiinflamatório e pró-inflamatórias dos tecidos adiposos estudados, em destaque para o tecido mesentérico. O efeito do exercício *per se* apresentou melhores resultados contra os parâmetros estudados, sendo que a suplementação da tributirina não apresentou benefícios quando associada ao treino de força. O modelo de exercício físico e a suplementação utilizada são ferramentas não farmacológicas e podem ser utilizados em estudos envolvendo pacientes com caquexia associada ao câncer, com segurança.

REFERÊNCIAS[1]

AGUSTSSON, T.; WIKRANTZ, P.; RYDÉN, M.; BRISMAR, T.; ISAKSSON, B. Adipose tissue volume is decreased in recently diagnosed cancer patients with cachexia. **Nutrition**, v. 28, p. 851-855, 2012.

AIZAWA, K.; IEMITSU, M.; MAEDA, S.; OTSUKI, T.; SATO, K.; USHIDA, T.; MESAKI, N.; AKIMOTO, T. Acute exercise activates local bioactive androgen metabolism in skeletal muscle. **Steroids**, v. 75, p. 219-223, 2010.

ARGILES, J. M.; MOORE-CARRASCO, R.; BUSQUETS, L.; LOPEZ- SORIANO, F. J. Catabolic mediators as targets for cancer cachexia. **Drug Discovery Today**, v. 8, p. 838-844, 2003.

ARGILÉS, J. M.; ALVAREZ, B.; LOPES-SORIANO, F. J. The metabolism basis of cancer cachexia. **Medicine Reserch Reviews**, v. 17, p. 477-498, 1997.

ARGILÉS, J. M.; MOORE-CARRASCO, R.; BUSQUETS, S.; LÓPEZ-SORIANO, F.J. Catabolic mediators as targets for cancer cachexia. **Drug DiscoveryToday**, v. 15, p. 838-844, 2003.

ARGILÉS, J. M.; LÓPEZ-SORIANO, F. J.; BUSQUETS, S. Mechanisms and treatment of cancer cachexia. **Nutrition Metabolism Cardiovascular Disease**, v. 30, p. 346-367, 2012.

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

AL-MAJID, S.; WATERS, H. The biological mechanisms of cancer-related skeletal muscle wasting: the role of progressive resistance exercise. **Biological Research for Nursing**, v. 10, n. 1, 2008.

AUGERON, C.; LABOISSE, C. Emergence of permanently differentiated cell clones in a human colonic cancer cell line in culture after treatment with sodium butyrate. **Cancer Research**, v. 44, p. 3961-3969, 1984.

BAAR, K.; NADER, G.; BODINE, S. Resistance exercise, muscle loading/unloading and the control of muscle mass. **Essays Biochemistry**, v. 42, p. 61-74, 2006.

BACURAU, R. F.; BELMONTE, M. A.; SEELAENDER, M. C.; COSTA ROSA, L. F. Effect of a moderate intensity exercise training protocol on the metabolism of macrophages and lymphocytes of tumour-bearing rats. **Cell Biochemistry Function**, v. 18, p. 249-258, 2000.

[1]De acordo com:
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BATISTA, M. L.; SANTOS, R. V.; OLIVEIRA, E. M.; SEELAENDER, M. C.; COSTA ROSA, L. F. Endurance training restores peritoneal macrophage function in post-MI congestive heart failure rats. **Journal Applied Physiology**, v. 102, p. 2033-2039, 2007.

BATISTA, M. L.; SANTOS, R. V.; LOPES, R. D.; LOPES, A. C.; COSTA ROSA, L. F.; SEELAENDER, M. C. Endurance training modulates lymphocyte function in rats with post-MI CHF. **Medicine Science Sports Exercise**, v. 40, p. 549-556, 2008.

BATISTA, M. L.; PERES, M. E.; MCDONALD, P. S. M.; ALCANTARA, M.; OLIVAN, J. P.; OTOCH, S. R.; FARMER, M.; SEELAENDER, M. C. Adipose tissue inflammation and cancer cachexia: Possible role of nuclear transcription factors. **Cytokine**, v. 57, p. 9-16, 2012.

BERTEVELLO, P. S.; SEELAENDER, M. C. Heterogeneous response of adipose tissue to cancer cachexia. **Brazilian Journal Medicine Biology Research**, v. 34, p. 1161-1167, 2001.

BING, C.; TRAYHURN, P. Regulation of adipose tissue metabolism in cancer cachexia. **Current Opinion Clinincal Nutrition and Metabolism Care**, v. 11, p. 201–207, 2008.

BRUERA, E.; SWEENEY, C. Cachexia and asthenia in cancer patients. **Lancet Oncology**, v. 1, p. 138-147, 2000.

CHAPADOS, N. A.; SEELAENDER, M.; LEVY, E.; LAVOIE, J. M. Effects of exercise training on hepatic microsomal triglyceride transfer protein content in rats. **Hormone and Metabolism Research**, v. 41, p. 287-293, 2009.

CHEN, Z-X.; BREITMAN, T. Tributyrin: a prodrug of butyric acid for potential clinical application in differentiation therapy. **Cancer Research**, v. 54, p. 3494–3499, 1994.

COSTA ROSA, L. F. Exercise as a time-conditioning effector in chronic disease: a complementary treatment strategy. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 1, p. 63-70, 2004.

CONLEY, B. A.; EGORIN, M. J.; TAIT, N.; ROSEN, D. M.; SAUSVILLE, E. A.; DOVER, G.; FRAM, R. J.; VAN ECHO, D. A. Phase I study of the orally administered butyrate prodrug, tributyrin, in patients with solid tumors. **Clinical Cancer Research**, v. 4, p. 629–634, 1998.

CUMMINGS, J. H.; POMARE, E. W.; BRANCH, W. J.; NAYLOR, C. P.; MACFARLANE, G. T. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. **Gut**, v. 28, p. 1221-1227, 1987.

DONATTO, F. F. et al. Fibras dietéticas: efeitos terapêuticos e no exercício. **Saúde em Revista**, v. 8, p. 65-71, 2006.

DONATTO, F. F.; PRESTES, J.; FROLLINI, A. B.; PALANCH, A. C.; VERLENGIA, R.; CAVAGLIERI, C. R. Effect of oat bran on time to exhaustion, glycogen content and serum cytokine profile following exhaustive exercise. **Journal of International Society of Sports Nutrition**, v. 18, p. 32-37, 2010.

DONATTO, F. F.; NEVES, R. X.; ROSA, F. O.; CAMARGO, R. G.; RIBEIRO, H.; MATOS-NETO, E. M.; SEELAENDER, M. C. Resistance exercise modulates lipid plasma profile and cytokine content in the adipose tissue of tumour-bearing rats. **Cytokine**, v. 61, p. 426-432, 2013.

DRUMMOND, D. C.; NOBLE, C. O.; KIRPOTIN, D. B.; GUO, Z.; SCOTT, G. K.; BENZ, C. C. Clinical development of histone deacetylase inhibitors as anticancer agents. **Annual Reviews Pharmacology and Toxicology**, v. 45, p. 495-528, 2005.

EDELMAN, M. J.; KHANWANI, K. B. S.; TAIT, N.; TREPEL, J.; KARP, J.; NEMIEBOKA, N.; CHUNG E. J.; ECHO, D. V. Clinical and pharmacologic study of tributyrin: an oral butyrate prodrug. **Cancer Chemotherapy Pharmacology**, v. 51, p. 439–444, 2003.

EGORIN, M. J.; YUAN, Z. M.; SENTZ, D. L.; PLAISANCE, K.; EISEMAN, J. L. Plasma pharmacokinetics of butyrate after intravenous administration of sodium butyrate or oral administration of tributyrin or sodium butyrate to mice and rats. **Cancer Chemotherapy Pharmacology**, v. 43, p. 445–453, 1999.

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

ESPÍNDOLA, R. M.; MAZZANTINI, R. P.; ONG, T. P.; DE CONTI, A.; HEIDOR, R.; MORENO, F. S. Geranylgeraniol and beta-iodine inhibit hepatic paraneoplastic lesions, cell proliferation, total plasma cholesterol and DNA damage during the initial phases of hepatocarcinogenesis, but only the former inhibits NF-kappa B activation. **Carcinogenesis**, v. 6, p. 1091-1099, 2005.

EVANS, W. J. Physical function in men and women with cancer. Effects of anemia and conditioning. **Oncology**, v. 16, p. 109-115, 2002.

FEARON, K. C.; MOSES, A. G. Cancer cachexia. **International Journal of Cardiology**, v. 85, p. 73-81, 2002.

FEARON, K. et al. Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus. **Lancet Oncology**, v. 12, p. 489–495, 2011.

FEBBRAIO, M. A.; PEDERSEN, B. K. Contraction-induced myokine production and release: is skeletal muscle an endocrine organ? **Exercise Sport Science Reviews**, v. 3, p. 114-119, 2005.

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

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **Journal Biology Chemistry**, v. 226, p. 497-509, 1957.

FRÜLHBECK, G.; GOMEZ-AMBROZI, J.; MURUZÁBEL, F. J.; BURRELL, M. A. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy and metabolic regulation. American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism, v. 280, p. E827 – E847, 2001.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

GREGOIRE, F. M.; SMAS, C. M.; SUL, H. S. Understanding adipocyte differentiation. **Physiology Reviews**, v. 78, p. 783–809, 1998.

GIERMASZ, A.; NOWIS, D.; JALILI, A., et al. Antitumor activity of tributyrin in murine melanoma model. **Cancer Letters**, v. 64, p. 143–148, 2001.

GORDON, L. G.; SCUFFHAM, P.; BATTISTUTTA, D.; GRAVES, N.; TWEEDDALE, M.; NEWMAN, B. A cost-effectiveness analysis of two rehabilitation support services for women with breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 94, p. 123-133, 2005.

HEERDT, B. G.; HOUSTON, M. A.; ANTHONY, G. M.; AUGENLICHT, L. H. Initiation of growth arrest and apoptosis of MCF-7 mammary carcinoma cells by tributyrin, a triglyceride analogue of the short-chain fatty acid butyrate, is associated with mitochondrial activity. **Cancer Research**, v. 59, p. 1584–1591, 1999.

HEIDOR, R.; ORTEGA, J. F.; DE CONTI, A.; ONG, T. P.; MORENO, F. S. Anticarcinogenic actions of tributyrin, a butyric acid prodrug. **Current Drugs Targets**, v. 13, p. 1720-1729, 2012.

HORNBERGER, T. A.; FARRAR, R. P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 29, p. 16-31, 2004.

HOJMAN, P.; DETHLEFSEN, C.; BRANDT, C.; HANSEN, J.; PEDERSEN, L.; PEDERSEN, B. K. Exercise-induced muscle-derived cytokines inhibit mammary cancer cell growth. **American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism**, v. 301, p. E504–E510, 2011.

IIZUKA, K. Recent progress on the role of ChREBP in glucose and lipid metabolism. **Endocrine Journal**, v. 60, p. 543-555, 2013.

INAN, M.S.; RASOULPOUR, R.J.; YIN, L. et al. The luminal short-chain fatty acid butirato modulates NFκB activity in a human colonic epithelial cell line. **Gastroenterology**, v. 18, p. 724-734, 2000.

KABIR, S.; DAAR, G. A. Serum levels of interleukin-1, interleukin-6 and tumour necrosis factor-alpha in patients with gastric carcinoma. **Cancer Letters**, v. 16, p. 207-212, 1995.

KAZANTZIS, M.; SEELAENDER, M. C. Cancer cachexia modifies the zonal distribution of lipid metabolism-related proteins in rat liver. **Cell Tissue Research**, v. 321, p. 419-427, 2005.

KRAMER, H. F.; GOODYEAR, L. J. Exercise, MAPK, and NF-kappaB signaling in skeletal muscle. **Journal Applied Physiology**, v. 103, p. 388-395, 2007.

KRZYSTEK-KORPACKA, M.; MATUSIEWICZ, M.; DIAKOWSKA, D.; GRABOWSKI, K.; BLACHUT, K.; KUSTRZEBA-WOJCICKA, I.; BANAS, T. Impact of weight loss on circulating IL-1, IL-6, IL-8, TNF-alpha, VEGF-A, VEGF-C and midkine in gastroesophageal cancer patients. **Clinical Biochemistry**, v. 40, p. 1353-1360, 2007.

LAVOIE, J. M.; FILLION, Y.; COUTURIER, K.; CORRIVEAU, P. Evidence that the decrease in liver glycogen is associated with the exercise-induced increase in IGFBP-1. **Journal Applied Physiology**, v. 93, p. 798-804, 2002.

LAVOIE, J. M.; GAUTHIER, M. S. Regulation of fat metabolism in the liver: link to nonalcoholic hepatic steatosis and impact of physical exercise. **Cellular and Molecular Life Science**, v. 63, p. 1393–1409, 2006.

LAVIANO, A.; SEELAENDER, M.; RIANDA, S.; SILVERIO, R.; ROSSI FANELLI, F. Neuroinflammation: a contributing factor to the pathogenesis of cancer cachexia. **Critical Reviews Oncology**, v. 17, n. 3, p. 247-251, 2012.

LIRA, F. S.; TAVARES, F. L.; YAMASHITA, A. S.; KOYAMA, C. H.; ALVES, M. J.; CAPERUTO, E. C.; BATISTA JR, M. L.; SEELAENDER, M. Effect of endurance training upon lipid metabolism in the liver of cachectic tumour-bearing rats. **Cell Biochemistry and Function**, v. 26, p. 701-718, 2008.

LIRA, F. S.; ROSA NETO, J. C.; ZANCHI, N.; YAMASHITA, A. S.;LOPES, R. D.; LOPES, A. C.; BATISTA JR, M. L.; SEELAENDER, M. Regulation of inflammation in the adipose tissue in cancer cachexia: effect of exercise. **Cell Biochemistry and Function**, v. 27, p. 71-75, 2009.

LIRA, F. S.; CARNEVALI, L. C.; ZANCHI, N. E.; SANTOS, R. V.; LAVOIE, J. M.; SEELAENDER, M. Exercise intensity modulation of hepatic lipid metabolism. **Journal of Nutrition Metabolism**, v. 8, p. 1-6, 2012.

LIHN, A. S.; PEDERSEN, S. B.; RICHELSEN, B. Adiponectin: action, regulation and association to insulin sensitivity. **Obesity Reviews**, v. 6, p. 13-21, 2005.

MACHADO, A. P.; COSTA ROSA, L. F.; SEELAENDER, M. C. Adipose tissue in Walker 256 tumour-induced cachexia: possible association between decreased leptin concentration and mononuclear cell infiltration. **Cell Tissue Research**, v. 318, p. 503-514, 2004.

MAIER, S.; REICH, E.; MARTIN, R.; BACHEM, M.; ALTUG, V.; HAUTMANN, R. E.; GSCHWEND, J. E. Tributyrin induces differentiation, growth arrest and apoptosis in

androgen-sensitive and androgen-resistant human prostate cancer cell lines. **International Journal of Cancer**, v. 88, p. 245-251, 2000.

MARTÍN, F.; SANTOLARIA, F.; BATISTA, N.; MILENA, A.; GONZÁLEZ-REIMERS, E.; BRITO, M.J.; ORAMAS, J. Cytokine levels (IL-6 and IFN-gamma), acute phase response and nutritional status as prognostic factors in lung cancer. **Cytokine**, v. 1, p. 80-86, 1999.

MARTINS, J. R.; FERNANDES, L. C.; BARTOL, I.; CIPOLLA-NETO, J.; COSTA ROSA, L. F. The effect of melatonin chronic treatment upon macrophage and lymphocyte metabolism and function in Walker-256 tumour-bearing rats. **Journal of Neuroimmunology**, v. 82, p. 81-89, 1998.

MARTI, A.; BERRAONDO, B.; MARTÍNEZ, J. A. Leptin: physiological actions. **Journal Physiology Biochemistry**, v. 55, p. 43-50, 1999.

MEIER, R.; GASSULL, M. A. Consensus recommendations on the effects and benefits of fibre clinical practice. **Clinical Nutrition Supplement**, 1, 73-80, 2004.

MEYER, T.; GABRIEL, H.; RÄTZ, M.; MULLER, H. J.; KINDERMANN, W. Anaerobic exercise induces moderate acute phase response. **Medicine Science and Sports Exercise**, v. 33, p. 549-555, 2001.

MORLEY, J. E.; THOMAS, D. R.; WILSON, M. M. Cachexia: pathophysiology and clinical relevance. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 83, p. 735-743, 2006.

NAI-KONG, V.; CHEUNG, N. C; MODAK, S.; VICKERS, A.; KNUCKLES, B. Orally administered *b*-glucans enhance anti-tumor effects of monoclonal antibodies. **Cancer Immunology and Immunotherapy**, v. 51, p. 557–564, 2002.

NIELSEN, S.; PEDERSEN, B.K. Skeletal muscle as an immunogenic organ. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 8, p. 346–351, 2008.

PRASAD, K. Butyric acid: a small fatty acid with diverse biologic functions. **Life Science**, v. 27, p. 1351–1358, 1980.

PARODI, P. W. Cows' milk fat components as potential anticarcinogenic agents. **Journal of Nutrition**, v. 127, p. 1055–1060, 1997.

PEDERSEN, B. K.; AKERSTROM, T. C.; NIELSEN, A. R.; FISCHER, C. P. Role of myokines in exercise and metabolism. **Journal Applied Physiology**, v. 103, p. 1090-1093, 2007.

PEDERSEN, L.; HOJMAN, P. Muscle-to-organ cross talk mediated by myokines. **Adipocyte**, v. 1, p. 164–167, 2012.

PEDERSEN, B.K. Muscular interleukin-6 and its role as an energy sensor. **Medicine Science and Sports Exercise**, v. 44, p. 392-396, 2012.

PFITZENMAIER, J.; VESSELLA, R.; HIGANO, C. S.; NOTEBOOM, J. L.; WALLACE JR, D.; COREY, E. Elevation of cytokine levels in cachectic patients with prostate carcinoma. **Cancer**, v. 1, p. 211-216, 2003.

PRESTES, J.; LEITE, R. D.; PEREIRA, G. B.; SHIGUEMOTO, G. E.; BERNARDES, C. F.; ASANO, R. Y.; SALES, M. M.; BARTHOLOMEU NETO, J.; PEREZ, S. E. Resistance training and glycogen content in ovariectomized rats. International **Journal of Sports Medicine**, v. 33, p. 550-554, 2012.

PILEGAARD, H.; KELLER, C.; STEENSBERG, A.; HELGE, J. W.; PEDERSEN, B. K.; SALTIN, B.; NEUFER, D. Influence of pre-exercise muscle glycogen concentrations on exercise-induced transcriptional regulation of metabolic genes. **Journal Physiology**, v. 54, p. 261-271. 2002.

ROSA NETO, J. C; LIRA, F. S.; OYAMA, L. O.; ZANCHI , N. E.; YAMASHITA, A. S.; BATISTA JR, M. L.; OLLER DO NASCIMENTO, C.; SEELAENDER, M. Exhaustive exercise causes an anti-inflammatory effect in skeletal muscle and a pro-inflammatory effect in adipose tissue in rats. **Eur. J. Appl. Physiol.**, v. 106, p. 697–704, 2009.

RONTI, T.; LUPATTELLI, G.; MANNARIANO, E. The endocrine function os adipose tissue: an up date. **Clinical Endocrinology**, v. 64, p. 355-365, 2006.

ROMBEAU, J. L. Investigations of short-chain fatty acids in humans. **Clinical Nutrition**, v. 1, p. 19-23, 2004.

SHEPPARD, W.; LUERS, H.; MELCHER, R.; GOSTNER, A.; SCHAUBER, J.; KUDLICH, T.; WEILER, F.; MENZEL. Antiinflamatory and carcinogenic effects of dietary fibre. **Clinical Nutrition Supplement,** v. 1, p. 51-58, 2004.

STELIOU, K.; BOOSALIS, M. S.; PERRINE, S. P.; SANGERMAN, J.; FALLER, D. V. Butyrate histone deacetylase inhibitors. **BioResearch**, v. 1, p. 102-110, 2012.

SEELAENDER, M. C.; NASCIMENTO, C. M.; CURI, R.; WILLIAMS, J. F. Studies on the lipid metabolism of Walker 256 tumour-bearing rats during the development of cancer cachexia. **Biochemistry and Molecular Biology**, v. 39, p. 37-47, 1996.

SEELAENDER, M.; BATISTA, J. R.; LIRA, F.; SILVÉRIO, R.; ROSSI-FANELLI, F.; Inflammation in cancer cachexia: to resolve or not to resolve. (is that the question?). **Clinical Nutrition**, v. 31, p. 562-566, 2012.

SHIBATA, M.; TAKEKAWA, M.; AMANO, S. Increased serum concentrations of soluble tumor necrosis factor receptor I in noncachectic and cachectic patients with advanced gastric and colorectal cancer. **Surgery Today**, v. 28, p. 884-888, 1998.

SCHRODER, C.; ECKERT, K.; MAURER, H. R.Tributyrin induces growth inhibitory and differentiating effects on HT-29 colon cancer cells in vitro. **International Journal of Oncology**, v. 13, p. 1335–1340, 1998.

SU, J.; ZHANG, N.; HO, P.C. Determination of tributyrin and its metabolite butyrate in Wistar rat plasma samples by gas chromatography/mass spectrometry. **Rapid Communication of Mass Spectrometry**, v. 18, p. 2217–2222, 2004.

TAVARE, F. L.; SEELAENDER, M. C. Hepatic denervation impairs the assembly and secretion of VLDL-TAG. **Cell Biochemistry and Function**, v. 26, p. 557-565, 2008.

TOPPING, D. L.; CLIFTON, P. M. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. **Physiology Reviews**, v. 81, p. 1031-1064, 2001

TISDALE, M. J. Biology of Cachexia. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 89, n. 23, 1997.

TCHKONIA, T.; GIORGADZE, N.; PIRTOKHALAVA. Fat depot origin affects adipogenesis in primary cultured and cloned human preadipocytes. **American Journal of Physiology: Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 282, p. 1286-1296, 2001.

TRINCHIERI, G. Cancer and inflammation: an old intuition with rapidly evolving new concepts. **Annu. Rev. Immunol.**, v. 30, p. 677-706, 2012.

TISDALE, M. J. Mechanisms of Cancer Cachexia. **Physiol. Rev**., v. 89, p. 381–410, 2009.

TCHKONIA T.; GIORGADZE, N.; PIRTOKHALAVA, P. Fat depot origin affects adipogenesis in primary cultured and cloned human preadipocytes. **Am. J. Physiol Reg. Integ Comp Physiol.,** v. 282, p. R1286 – R1296, 2001.

UNGER, R. H. The physiology of liporegulation. **Ann. Rev. Physiol.**, v. 65, p. 333–347, 2003.

USAMI, M.; KISHIMOTO, K.; OHATA, A.; MIYOSHI, M.; AOYAMA, M. et al. Butyrate and trichostatin A attenuate nuclear factor kappab activation and tumor necrosis factor alpha secretion and increase prostaglandin e2 secretion in human peripheral blood mononuclear cells. **Nutrition Research**, v. 28, p. 321–328, 2008.

VECCHIA, M. G. et al. Propionate inhibitis cell proliferation in culture. **Cancer Research Therapy and Control**, v. 3, p. 15-21, 1992.

VECCHIA, M. G. et al. Acetate and propionate the antiproliferative effect of butyrate on RBL-2H3 growth. **Genterology in Pharmacology,** v. 29, p. 725-728, 1997.

VERMA, V. K.; SINGH, V.; PAL SINGH, M.; SINGH, S. M. Effect of physical exercise on tumor growth regulating factors of tumor microenvironment: Implications in exercise-dependent tumor growth retardation. **Immunopharmacol. Immunotoxicol.**, v. 31, p. 274-82, 2009.

VELAZQUEZ, O. C.; LEDERER, H. M.; ROMBEAU, J. L. Butyrate and the colonocyte. Production, absorption, metabolism, and therapeutic implications. **Advance in Experimental Medicine and Biology**, v. 427, p. 123-134, 1997.

VINOLO, M. A.; RODRIGUES, H. G.; NACHBAR, R. T.; CURI, R. Regulation of inflammation by short chain fatty acids. **Nutrients**, v. 3, p. 858–876, 2011.

VINOLO, M. A. R. et al. Tributyrin attenuates obesity-associated inflammation and insulin resistance in high-fat-fed mice. **American Journal Physiology: Endocrinology and Metabolism**, v. 303, p. E272–E282, 2012.

VON HAEHLING, S.; GENTH-ZOTZ, S.; ANKER, S. D.; VOLK, H. D. Cachexia: a therapeutic approach beyond cytokine antagonism. International Journal of Cardiology, v. 85, p. 173-183, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Disponível em: <www.who.int/>. Acesso em: 2 fevereiro, 2011.

WOOD, P. J.; WEISZ, J.; MAHN, W. Molecular characterisation of cereal b-glucans. II. Size-exclusion chromatography for comparison of molecular weight. **Celular Chemistry**, v. 68, p. 530–536, 1991.

WIREN, S. T.; RINALDI, S. Androgens and prostatecarcinoma risk: a prospective study. **Prostate**, v. 67, p. 1230-1235, 2007.

YASPELKIS, B. B.; SINGH, M. K.; TREVINO, B.; KRISAN, A. D.; COLLINS, D. E. Resistance training increases glucose uptake and transport in rat skeletal muscle. **Acta Physiology Scandinavian**, v. 175, p. 315-323, 2002.

YOU, T.; NICKLAS, B. J. Effects of exercise on adipokines and the metabolic syndrome. **Current Diabetes Reports**, v. 8, p. 7-11, 2008.

ZANCHI, N. E.; LANCHA JR, A. H. Mechanical stimuli of skeletal muscle: implications on mTOR/p70s6k and protein synthesis. **European Journal Applied Physiology**, v. 102, p. 253-263, 2008.

ZANCHI, N. E.; DE SIQUEIRA FILHO, M.A.; LIRA, F.S.; ROSA, J.C.; YAMASHITA, A.S.; DE OLIVEIRA CARVALHO, C.R.; SEELAENDER, M.; LANCHA-JR, A.H. Chronic resistance training decreases MuRF-1 and Atrogin-1 gene expression but does not modify Akt, GSK-3beta and p70S6K levels in rats. **European Journal Applied Physiology**, v. 106, p. 415-423, 2009.

APÊNDICE A

Tabela 1. Composição nutricional da ração NUVLAB® utilizada no experimento.

Ração AIN 93 M	100g
Calorias	360 kcal
Cho	75,9%
Prot	14%
Lip	10%

Tabela 2: Peso corporal dos grupos experimentais durante o período experimental.

Grupos	1ª. Semana peso (g)	8ª.semana peso (g)	Peso final descontado o peso do tumor (g)
CT	206,7 ± 3,2	380,2 ± 6,2	
TB	210,9 ± 1,1	315,5 ± 3,8	294,1
TBTR	206,3 ± 2,9	345,9 ± 1,8	337 [b]
TFTB	204,7 ± 6,7	398,1 ± 3,5	395 [b c]
TFTBTR	206,2 ± 2,5	400,4 ± 4,2	398,5 [b c]

Valores em média±e.p.m. (n=7) (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Tabela 3: Peso final dos tumores dos grupos experimentais.

Peso Tumor (g)	TB	TBTR	TFTB	TFTBTR
	21,4 ± 1,8	8,9 ± 1,2 [a]	3,1 ± 0,8 [a b]	1,9 ± 0,3 [a b]

Valores em média±e.p.m. n=7) (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Tabela 4. Evolução de cargas utilizadas no protocolo de exercício experimental

Semana/Repetição Máxima (g)	TF	TFTB	TFTBTR
1ª. semana	150 ± 12	156 ± 31	165 ± 15
2ª. semana	175 ± 21	187 ± 38	176 ± 24
3ª.semana	200 ± 15	203 ± 56	205 ± 42
4ª.semana	245 ± 43	234 ± 23	230 ± 19
5ª.semana	278 ± 42	298 ± 33	300 ± 39
6ª.semana	320 ± 28	300 ± 35	334 ± 65
7ª.semana	343 ± 45	220 ± 43	300 ± 51
8ª.semana	398 ± 56	187 ± 67	280 ± 62

Valores em média±e.p.m. (n=7). (TF) Treino de Força, (TFTB) Treinado com Tumor e (TFTBTR) Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$). a: comparado a TF, b: comparado a TFTB e c: comparado a TFTBTR.

Evolução Ponderal (g) dos animais durante o período experimental

	CT	TB	TBTR	TFTB	TFTBTR
1ª. semana	206	210	212	206	206
2ª.semana	210	220	234	211	218
3ª. semana	224	232	243	254	245
4ª. semana	252	267	265	278	277
5ª. semana	280	279	298	282	301
6ª. semana	301	290	321	312	334
7ª. semana	343	300	334	325	378
8ª. semana	380	315	360	345	400

Valores em média±e.p.m. (n=7). (TF) Treino de Força, (TFTB) Treinado com Tumor e (TFTBTR) Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$). a: comparado a TF, b: comparado a TFTB e c: comparado a TFTBTR.

Consumo de ração (g) dos animais durante o período experimental

	CT	TB	TBTR	TFTB	TFTBTR
1[a]. semana	12	14	12	14	12
2[a].semana	15	18	16	17	17
3[a]. semana	18	19	19	22	21
4[a]. semana	22	20	21	22	22
5[a]. semana	23	21	21	22	23
6[a]. semana	23	20	20	20	18
7[a]. semana	24	15	18	19 [b]	20 [b]
8[a]. semana	24	15	18	19 [b]	21 [b]

Valores em média±e.p.m. n=7) (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Tabela 5. Conteúdo de glicogênio e proteína do musculo gastrocnêmio.

	CT	TB	TBTR	TFTB	TFTBTR
Glicogênio Muscular (mg/g)	3,6 ± 0,2	2,8 ± 0,3	3,9 ± 0,3	4,5 ± 0,2 [ab]	4,2 ± 0,2 [ab]
Proteína muscular (ug/ul)	3,2 ± 0,1	2,7 ± 0,5	2,9 ±0,4	5,2 ± 0,5 [abc]	5,5 ± 0,1 [abc]

Valores em média±e.p.m. (n=7) (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Tabela 6. Conteúdo de glicogênio e TAG hepático.

	CT	TB	TBTR	TFTB	TFTBTR
Glicogênio Hepático (mg/g)	3,5 ± 0,5	1,8 ± 0,2 [ade]	2,4 ± 0,8	3,1 ± 0,9	3,8 ± 0,5 [c]
TAG hepático (mg/100mg)	54,7 ± 12,1	112,9 ± 6,8 [a]	86,2 ± 11,9 [ab]	92,4 ± 9,1 [ab]	82,8 ±9,3 [ab]

Valores em média±e.p.m. (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Tabela 7: Determinações bioquímicas plasmáticas do grupos experimentais.

	CT	TB	TBTR	TFTB	TFTBTR
Glicose (mg/dL)	90,5 ± 5,2	108,2 ± 7,8 [a]	98,1 ± 2,9 [b]	92,8 ± 3,4 [b]	91,9 ± 5,7 [b]
Colesterol (mg/dL)	95,2 ± 3,4	122,4 ± 10, 8 [a]	102,8 ± 8,7 [b]	90,6 ± 2,4 [b]	89,7 ± 3,7 [b]
TAG (mg/dL)	88,6 ± 2,7	137,4 ± 5,8 [a]	112,8 ± 7,1 [b]	100,4 ± 4,5 [b]	102,1 ± 9,5 [b]
VLDL-c (mg/dL)	19,2 ± 1,2	27,9 ± 6,9 [a]	21,5 ± 2,9 [b]	20,8 ± 4,9 [b]	19,5 ± 9,1 [b]
LDL-c (mg/dL)	15,9 ± 1,7	21,1 ± 9,6 [a]	17,6 ± 5,1 [b]	16,9 ± 9,1 [b]	17,2 ± 2,7 [b]
HDL-c (mg/dL)	56,1 ± 3,3	42,8 ± 8,4 [a]	49,3 ± 1,9 [b]	50,1 ± 3,9 [b]	51,9 ± 5,1 [b]

Valores em média±e.p.m. (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Tabela 8: Concentrações plasmáticas de testosterona, leptina e adiponectina.

	CT	TB	TBTR	TFTB	TFTBTR
Testosterona (ng/ml)	223 ± 12,4	198 ± 23,5 [cde]	315 ± 41,2 [de]	723 ± 32,8	672 ± 17,2
Leptina (ng/ml)	2,9 ± 0,8	2,5 ± 0,5	1,04 ± 0,4 [ab]	0,75 ± 0,2 [abc]	0,82 ± 0,1 [ab]
Adiponectina (ug/ml)	15,2 ± 7,1	10,2 ± 2,4 [a]	20,4 ± 1,6 [ab]	25,9 ± 9,2 [abc]	26,8 ± 9,8 [abc]

Valores em média±e.p.m. (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Quantidade de IL-6 (pg/ug) nos tecidos adiposos analisados

	CT	TB	TBTR	TFTB	TFTBTR
Tec. mesentérico	2,2 ± 1,1	7,8 ± 1,6 [a]	4,3 ± 2,1 [b]	4,5 ± 1,8 [b]	3,8 ± 1,4 [b]
Tec. epididimal	4,1 ± 1,9	8,4 ± 1,8 [a]	4,4 ± 1,7 [b]	3,2 ± 1,9 [b]	3,8 ± 0,9 [b]
Tec. retroperitoneal	1,8 ± 0,6	6,2 ± 1,2 [a]	3,8 ± 1,9 [b]	2,1 ± 0,9 [b]	2,4 ± 0,5 [b]

Valores em média±e.p.m. (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados ($p<0.05$) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Quantidade de TNF-a (pg/ug) nos tecidos adiposos analisados

	CT	TB	TBTR	TFTB	TFTBTR
Tec. mesentérico	3,8 ± 0,4	9,7 ± 0,9 [a]	4,2 ± 1,0 [b]	4,5 ± 1,2	5,3 ± 0,3
Tec. epididimal	3,3 ± 0,2	6,0 ± 1,6 [a]	3,6 ± 0,4 [b]	3,0 ± 1,3 [b]	3,9 ± 0,6 [b]
Tec. retroperitoneal	2,1 ± 0,1	7,4 ± 2,0 [a]	5,1 ± 1,0 [b]	3,7 ± 0,4 [b]	3,1 ± 0,9 [b]

Valores em média±e.p.m. (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados (p<0.05) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Quantidade de IL-10 (pg/ug) nos tecidos adiposos analisados

	CT	TB	TBTR	TFTB	TFTBTR
Tec. mesentérico	1,8 ± 0,9	4,7 ± 0,2 [a]	3,1 ± 0,3 [b]	3,8 ± 0,2	3,6 ± 0,8
Tec. epididimal	1,9 ± 0,1	3,8 ± 0,3 [a]	3,2 ± 0,8	2,9 ± 0,2	2,5 ± 0,2 [b]
Tec. retroperitoneal	2,6 ± 0,2	5,2 ± 0,4 [a]	4,2 ± 2,0	5,1 ± 1,7 [c]	4,8 ± 2,1

Valores em média±e.p.m. (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados (p<0.05) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

Área seccional dos adipócitos analisados (um^2)

	CT	TB	TBTR	TFTB	TFTBTR
Tec. mesentérico	4.500 ± 112	1.200 ± 98 [a]	2.300 ± 150 [a b]	3.800 ± 210 [bc]	4.200 ± 180 [bc]
Tec. epididimal	4.100 ± 191	1.150 ± 278 [a]	1.900 ± 231 [a b]	2.900 ± 432 [bc]	3.900 ± 129 [bcd]
Tec. retroperitoneal	3.700 ± 180	800 ± 97 [a]	2.050 ± 234 [a b]	3.700 ± 214 [bc]	3.200 ± 254 [bc]

Valores em média±e.p.m. (CT) Controle, (TB) Grupo Tumor, (TBTR) Grupo Tumor tratado com tributirina, (TFTB) Grupo Treinado com Tumor e (TFTBTR) Grupo Treinado com tumor tratado com tributirina. Direfenças estatísticas por ANOVA duas vias indicados (p<0.05) a: comparado a CT, b: comparado a TB, c: comparado a TBTR, d: comparado a TFTB, e: comparado a TFTBTR.

APÊNDICE B

Cytokine 61 (2013) 426–432

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Cytokine

journal homepage: www.journals.elsevier.com/cytokine

Resistance exercise modulates lipid plasma profile and cytokine content in the adipose tissue of tumour-bearing rats

F.F. Donatto, R.X. Neves, F.O. Rosa, R.G. Camargo, H. Ribeiro, E.M. Matos-Neto, M. Seelaender *

Cancer Metabolism Research Group, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:
Received 29 February 2012
Received in revised form 8 September 2012
Accepted 14 October 2012
Available online 22 November 2012

Keywords:
Resistance training
Adipose tissue
Cancer
Cytokines

ABSTRACT

Cancer cachexia is a multifactorial syndrome characterised by progressive weight loss, frequently accompanied by anorexia, sarcopenia, and chronic systemic inflammation. The white adipose tissue is markedly affected by cachexia and contributes to this syndrome throught the secretion of pro-inflammatory factors which reach the adjacent tissues and the circulation. A nonpharmacologic intervention that may attenuate cancer cachexia is chronic physical activity, but the effect of resistance training upon adipose tissue inflammation in cachexia has never been examined. For that purpose we designed a protocol in which animals were randomly assigned to a control group (CT, $n = 7$), a Tumour bearing group (TB, $n = 7$), a Resistance Trained group (RT, $n = 7$) and a Resistance Trained tumour bearing group (RTTB, $n = 7$). Trained rats climbed a vertical ladder with an extra load attached to the tail, representing 75–90% of total body mass, 3 times per week, for 8 weeks. In the 6th week of resistance training, tumour cells (3×10^7 Walker 256 carcinosarcoma) were inoculated in the tumour groups. Body, adipose tissue, muscle and tumour mass was determined, as well a blood biochemical parameters, and the hormone and cytokine profile assessed. The glycogen content of the liver and muscle was measured. IL-10, IL-6 and TNF-α protein expression was evaluated in the mesenteric adipose tissue (MEAT) examined. Resistance training increased by 9% body weight gain in RTTB (final weight 310.8 ± 9.8 g), when compared with TB (final weight 288.3 ± 4.9 g). LDL-c levels were decreased in RTTB (0.28 ± 0.9 mmol/L) by 43% when compared with TB (0.57 ± 0.1 mmol/L). HDL-c levels were increased in RTTB (1.31 ± 0.12 mmol/L) by 15% in regard to CT (1.13 ± 0.7 mmol/L) and 22% as compared with TB (1.07 ± 0.07 mmol/L). RTTB testosterone levels (577 ± 131 ng/mL) were 55% higher when compared with CT (254 ± 41.3 ng/mL) and 63% higher when compared with TB (221 ± 23.1 ng/mL). Adiponectin levels were augmented in RT (23 μg/mL) by 43% when compared with TB (11 μg/mL). Protein expression of IL-6 was increased 38% in TB MEAT (5.95 pg/μg), as compared with CT (3.64 pg/μg) and 50% compared with RTTB (2.91 pg/μg). Similar results with respect to TNF-α TB (7.18 pg/μg) were observed: 39% and 46%, higher protein expression in comparison with CT (4.63 pg/μg) and RTTB (3.8 pg/μg), respectively. IL-10 protein expression was found to be increased in TB (4.4 pg/μg) and RTTB (3.2 pg/μg) 50% and 47%, respectively, in comparison with CT (1.2 pu/μg). The IL-10/TNF-α ratio was higher in RTTB in relation to all others experimental groups. The results show a robust effect of resistance exercise training in preventing important symptoms of cancer cachexia, thus strongly suggesting it may appear as an alternative to endurance exercise as a non-pharmacological therapy in the management of this syndrome.

Crown Copyright © 2012 Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Background

Cachexia is a multifactorial syndrome characterised by progressive weight loss, frequently accompanied by anorexia, sarcopenia, and chronic systemic inflammation [1]. It is today envisaged as a degenerative chronic inflammatory disease, being deeply related with the increase of pro-inflammatory factors, especially tumour necrosis factor alpha (TNF-α) and interleukin 6 (IL-6) [2]. We have previously shown [3] than in addition to presenting morphological, biochemical and physiological alterations in response to cachexia, the white adipose tissue may function as an important contributor to cachexia-related inflammation, as it actively secretes pro-inflammatory factors which reach the adjacent tissues and the circulation [4].

To the present day, no specific interventions have proven effective in preventing or reversing cachexia. Interventions such as nutritional supplementation and appetite stimulants are only partially helpful. On the other hand, a most promising nonpharmacological intervention that may attenuate cancer cachexia is chronic physical activity [5]. The literature shows benefits that range from improvement of overall physical function, to reduce fatigue, and augment of life quality [6], and attenuation of the side

* Corresponding author. Address: Av. Prof. Lineu Prestes, 1524, CEP 05508-900 Butantã, São Paulo, Brazil. Fax: +55 011 3091 7402.
E-mail address: seelaend@ich.usp.br (M. Seelaender).