



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA

Emilianne Miguel Salomão

“Atividade física associada ao crescimento tumoral e
suplementação nutricional. Estudo experimental em ratos
jovens portadores do carcinossarcoma de Walker 256”

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
Emilianne Miguel Salomão
e aprovada pela Comissão Julgadora.

*Dissertação apresentada ao Instituto de Biologia da
Universidade Estadual de Campinas, para obtenção
do título de Mestre em Biologia Funcional e
Molécula. Área de Fisiologia*

Carla de A. S. S.
16/12/2005

Orientadora: Profa. Dra. Maria Cristina Cintra Gomes Marcondes

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Emilianne Miguel Salomão

**“Atividade física associada ao crescimento tumoral e
suplementação nutricional. Estudo experimental em ratos
jovens portadores do carcinossarcoma de Walker 256”**

Tese apresentada ao Instituto de
Biologia da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do título de
Mestre em Biologia Funcional e
Molecular. Área de Fisiologia.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Cristina Cintra Gomes Marcondes

2005

UNIDADE DU
Nº CHAMADA 1/UNICAMP
Sa36a
V _____ EX _____
TOMBO BC/ 69180
PROC 16.123-06
C _____ D x
PREÇO 11,00
DATA 06/07/06
Nº CPD _____

BIB ID - 381879

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP

Sa36a

Salomão, Emilianne Miguel

Atividade física associada ao crescimento tumoral e suplementação nutricional: estudo experimental em ratos jovens portadores do carcinossarcoma de Walker 256 / Emilianne Miguel Salomão. -- Campinas, SP: [s.n.], 2005.

Orientadora: Maria Cristina Cintra Gomes Marcondes.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Câncer. 2. Caquexia. 3. Exercícios físicos. 4. Aminoácidos. 5. Proteínas - Metabolismo. I. Marcondes, Maria Cristina Cintra Gomes. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Título em inglês: Physical training associated to tumor growth and nutritional supplementation in Walker 256 tumor-bearing rats.

Palavras-chave em inglês: Cancer; Cachexia; Exercise; Amino acids; Protein metabolism.

Área de concentração: Fisiologia.

Titulação: Mestrado em Biologia Funcional e Molecular.

Banca examinadora: Maria Cristina Cintra Gomes Marcondes, Maria Alice Roston de Mello, Miguel Arcanjo Areas.

Data da defesa: 16/12/2005.

Data da Defesa: 16/12/2005

BANCA EXAMINADORA

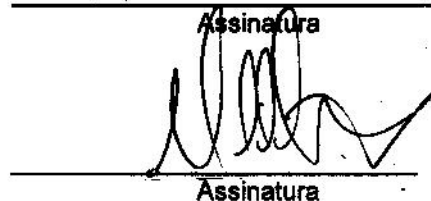
Profa. Dra. Maria Cristina Cintra Gomes Marcondes
(Orientadora)


Assinatura

Profa. Dra. Maria Alice Rostom de Mello


Assinatura

Prof. Dr. Miguel Arcanjo Áreas


Assinatura

Prof. Dr. José Camillo Novello

Assinatura

Profa. Dra. Laurecir Gomes

Assinatura

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais Antonio de Paula Salomão e Genilde Nascimento Salomão, que nunca mediram esforços e acreditaram neste meu sonho, pelo amor e apoio incondicional por todos esses anos. Obrigado de coração, vocês são tudo em minha vida. Amo muito vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus.

Eu pedi Força... e Deus me deu Dificuldades para me fazer forte.

Eu pedi Sabedoria... e Deus me deu Problemas para resolver.

Eu pedi Prosperidade... e Deus me deu Cérebro e Músculos para trabalhar.

Eu pedi Coragem... e Deus me deu Perigo para superar.

Eu pedi Amor... e Deus me deu pessoas com Problemas para ajudar.

Eu pedi Favores... e Deus me deu Oportunidades.

Eu não recebi nada do que pedi... Mas eu recebi tudo de que precisava.

Agradeço a todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente, por todos estes anos, para execução deste trabalho:

Meus sinceros agradecimentos a minha orientadora, Profa. Dra. Maria Cristina Cintra Gomes Marcondes, profissional que tanto admiro, pela amizade, oportunidade, incentivos, paciência e ensinamentos que tanto tem contribuído na minha formação.

Agradeço ao grande Amor da minha vida, meu namorado Michel, por todo amor, carinho, amizade, incentivos, compreensão, pelos momentos difíceis e muita, mais muita paciência. Mesmo à distância, por todos esses anos você sempre esteve presente nas horas que mais precisei, você é mais que especial, te admiro muito. Te amo lindo !!!

Agradeço muito aos meus queridos irmãos Michelle, Laurie e o pimpolho Miguel, sinto muita falta e saudade de todos grandes momentos que passamos juntos. Amo muito vocês!

Ao meu sobrinho lindo, João Antonio, minha paixão, não tenho palavras para descrever o tanto que você é especial em minha vida, Te amo muito!

Ao meu querido cunhado, Éverton, que considero como irmão, obrigado por tudo que tem feito por todos nós.

Aos amigos do laboratório de Nutrição e Câncer pela amizade, companheirismo de todas as horas, pela ajuda nos experimentos; Gislaine, Mércia, Cláudia, Leda, Bread, André, Tatiane e também aos novos alunos Camila, Angela e Marcos.

A todos grandes amigos de pós-graduação do Departamento de Fisiologia e Biofísica pelo incentivo, amizade e muitos churrascos. Obrigado de coração a todos pela ajuda quando mais precisei.

Aos funcionários e professores do Departamento de Fisiologia e Biofísica meu muito obrigado por tudo.

ÍNDICE

Resumo.....	viii
Abstract.....	x
Introdução.....	1
Objetivos.....	9
Materiais e Métodos.....	10
Resultados.....	19
Discussões.....	52
Conclusões.....	70
Bibliografia.....	71
Apêndice.....	81

RESUMO

A intensa mobilização de substratos dos tecidos da carcaça do hospedeiro, em função do crescimento neoplásico, promove no organismo o estado caracterizado como caquexia. Presente na maioria dos pacientes com câncer, a caquexia promove intensa perda involuntária de peso decorrente, preferencialmente, da depleção da proteína muscular em função do aumento da degradação e/ou da diminuição da síntese protéica, culminando na redução da qualidade e expectativa de vida. Trabalhos têm mostrado que o desenvolvimento do câncer dá-se de forma mais agressiva e severa quanto mais jovem for o paciente. Considerando-se que: a) os aminoácidos de cadeia ramificada, principalmente a leucina, participam ativamente na sinalização celular, estimulando a síntese como também inibindo a degradação protéica; b) a glutamina, aminoácido não essencial, participa indiretamente no aumento da síntese protéica muscular esquelética, como também da diminuição do catabolismo protéico; c) o exercício físico exerce grande estimulação da síntese protéica; temos por principal interesse, neste trabalho, minimizar as alterações metabólicas do tecido hospedeiro frente ao crescimento neoplásico. Assim, associando-se a suplementação nutricional de leucina e/ou glutamina e exercício físico aeróbio, de intensidade leve a moderada, ao crescimento do carcinossarcoma de Walker 256, avaliamos a composição corpórea, o metabolismo protéico do músculo gastrocnêmio, o estresse oxidativo e o perfil sérico (proteína, albumina, globulina, glicose, lípedes totais, colesterol total, colesterol HDL, triacilgliceróis e lactato) em ratos Wistar em pleno desenvolvimento corporal. Nossa tentativa foi, com

a suplementação nutricional aliada ao exercício, prevenir ou atenuar o estado caquético do animal conseqüente a evolução tumoral. Os resultados mostraram que os grupos inoculados com tumor apresentaram redução do peso corpóreo e da ingestão alimentar no final dos experimentos. Verificamos alterações na composição corpórea química, tais como, elevado teor de água corpórea, redução do teor de gordura total e diminuição do nitrogênio colágeno da carcaça nos ratos implantados com tumor de Walker 256. Houve, ainda, diminuição da síntese e aumento da degradação no músculo gastrocnêmio nos animais implantados com tumor. Além disso, observou-se aumento do conteúdo de malondialdeído (MDA), em relação ao conteúdo de antioxidantes como GST, nos músculos gastrocnêmio e cardíaco, indicando aumento do estresse oxidativo associado a evolução tumoral. Observamos também, redução dos teores séricos de proteína, albumina, glicose, colesterol e HDL nesses animais portadores de tumor. A associação suplementação nutricional/exercício promoveu melhora no estado caquético dos animais, visto que provocou: ligeira melhora da eficiência alimentar; preservação de proteína total da carcaça, manutenção da incorporação de fenilalanina e menor degradação da proteína muscular no grupo suplementado com leucina, além de preservar a proteína total sérica, manutenção da glicemia, colesterol total sérico e reduzir o lactato sérico, principalmente no grupo suplementado com leucina. Esses dados sugerem que o efeito benéfico da associação entre suplementação nutricional e exercício ao crescimento neoplásico foi pouco pronunciado, provavelmente, ao fato do crescimento acelerado do tumor superar as adaptações ao programa de treinamento físico.

ABSTRACT

The intense nutrients mobilisation of the host carcass tissue, in function of the neoplastic growth, leads to the host cachexia. Present in most of the patients with cancer, the cachexia is the state characterized by the involuntary weight loss that overtakes the protein muscle depletion increasing the degradation and/or decreasing the protein synthesis process in the muscle. In these cases, there is reduction of the quality and the life expectancy. On the other hand, some studies have shown that the development of the cancer is more aggressive and severe in younger patients. The branched-chain amino acids (BCAA), especially leucine, actively participate on cell signalling, stimulating the synthesis as well as inhibiting the protein degradation. The glutamine, a non essential amino acid, indirectly activates the muscle protein synthesis, as well as inhibits the protein catabolism. Additionally, the physical exercise stimulates the protein synthesis. Knowing these facts, our main interests, were to minimize the metabolic alterations in tumor-bearing host. The nutritional supplementation of leucine and/or glutamine and moderate aerobic exercise associated to the Walker 256 tumor growth could avoid the muscular depletion, preserve the protein body mass and the energetic source, possibly preventing the cachetic state of the animal. For this purpose, we evaluated the body chemical composition, the protein metabolism, measuring the muscle protein synthesis and catabolism, as well as the oxidative stress and biochemical blood profile in young tumor-bearing rats. The results showed reduced body weight and food intake in tumor-bearing rats. The tumor effects changed the chemical body composition, showing high body water content, reduced total body fat and low carcass nitrogen in Walker tumor-

bearing rats. Protein synthesis was reduced and proteolysis was increased in young tumor-bearing rats. Additionally, the malondyaldehyde content increased in skeletal and cardiac muscle suggesting high oxidative stress associated to the tumor development. We observed low blood protein, albumin, globulin, glucose and cholesterol in tumor-bearing rats. The improvement of the cachexia was less pronounced in tumor-bearing animal which received supplemented diet associated to physical exercise. In these groups, we verified that food efficiency was slightly increased in comparison to the non-exercised tumour-bearing group. The carcass protein was maintained as well as the phenylalanine incorporation in muscle and less tyrosine was released from skeletal muscle when tumour-bearing groups were fed leucine rich diet. In these groups, the total blood protein, glycemia, total blood cholesterol and reduced blood lactate were preserved, mainly in exercised group. Those data suggest that the beneficial effect of the association among amino acids rich diet, exercise and tumor growth was not so expressive, probably due to the exponential tumor growth overcame the physical training program.

INTRODUÇÃO

Apresentação geral

Câncer causa alterações dos processos homeostáticos e metabólicos do hospedeiro, desencadeando a caquexia, que pode levar à morte na maioria dos casos (BACARAU et al., 2000). Assim, caracterizada pela perda involuntária de peso, com conseqüências drásticas à massa corporal e ao estado funcional do paciente, a caquexia promove redução da força muscular e da resistência cardiovascular, alterações imunológicas, dentre outras debilidades. De modo geral, a caquexia causa impacto negativo sobre a habilidade de respostas dos pacientes frente ao tratamento antineoplásico, constituindo-se no ponto crucial do sucesso do tratamento, interferindo, assim, na sua expectativa de vida (LANGSTEIN & NORTON, 1991).

A anorexia, fator dentre outros que determina a caquexia em pacientes com câncer, é extremamente importante porque, nesse caso, o indivíduo incorpora menos energia do que gasta, agravando a perda de peso e as alterações do estado metabólico (INUI, 1999; TISDALE, 1999).

Dentre as alterações produzidas pelo crescimento neoplásico nos processos metabólicos, as alterações no metabolismo protéico causam diminuição do tempo de sobrevida de pacientes, pois a massa magra corporal diminui intensamente com o aumento da massa neoplásica (TISDALE, 2000). A redução do nitrogênio total, como conseqüência do balanço nitrogenado negativo, muitas vezes em decorrência da alta demanda pelo tecido neoplásico, leva à intensa perda de proteína corpórea do hospedeiro. Alterações marcantes no metabolismo

lipídico, também acarretam redução da reserva de gordura paralelamente ao aumento da massa tumoral (TISDALE, 2000). O metabolismo de glicídios, por sua vez, também está alterado devido à elevada utilização de glicose pelo tumor, a qual é sintetizada pela neoglicogênese (HOLM et al., 1995), a partir, principalmente, da alanina proveniente do catabolismo protéico. Dessa forma, a glicose é utilizada pelas células neoplásicas instalando, assim, o ciclo de Cori, onde a produção de energia via glicose anaeróbia está aquém do gasto produzido pela nova síntese de glicose (Cori & Cori 1925). Nesse caso, verifica-se *déficit* energético, agravando ainda mais o estado caquético do hospedeiro.

Fadiga e perda da performance física caracterizam a reduzida qualidade de vida dos pacientes com câncer, antes, durante e após o tratamento (DIMEO et al., 2003). Por outro lado, estudos mostram que o exercício aeróbio, quando bem monitorado melhora a performance física de pacientes com câncer, apresentando clara redução da fadiga e da perda muscular e, conseqüentemente, beneficiando a qualidade de vida desses indivíduos (ADAMSEN et al., 2003). Segundo BACARAU et al. (2000), a intervenção nutricional e exercício físico podem ajudar a reduzir a taxa de crescimento tumoral e o aparecimento de metástase em ratos, reduzindo os sintomas neoplásicos.

Estudos mostram que a suplementação de aminoácidos, particularmente a leucina, estimula a síntese de proteína muscular esquelética, porque possui efeito anabólico sobre o metabolismo protéico muscular, aumentando, assim, a taxa de síntese e diminuindo sua degradação (ANTHONY et al., 2001 e 2002; VENTRUCCI et al., 2004; GARLICK, 2005; MATHEWS, 2005). Por outro lado, a glutamina também pode estar indiretamente envolvida no

aumento da síntese de proteína muscular esquelética e diminuição do catabolismo protéico (YOSHIDA et al., 2001). Estudos de SHEWCHUK et al. (1997) e HOLECEK (2002) demonstraram que dieta suplementada com glutamina associada ao exercício melhorou a função imune e reduziu o crescimento tumoral.

REVISÃO DA LITERATURA

Câncer-caquexia

Caquexia, síndrome comum em muitos tipos de cânceres, é o fator mais importante que leva à morte prematura dos pacientes. Este quadro é caracterizado pela grande perda de peso, relacionando-se à diminuição da qualidade e do tempo de vida (TISDALE, 1997).

A perda de 30% do peso corpóreo, em particular de gordura e principalmente de musculatura esquelética, diminui a performance física e da resposta quimioterápica dos pacientes com câncer (TISDALE, 2000).

Dentre os sintomas ou causas do crescimento neoplásico, a anorexia, decréscimo da ingestão alimentar, é a complicação mais freqüente em pacientes com câncer (INUI, 2000). A síndrome anorexia-caquexia é causada por alterações metabólicas e, principalmente, pelas citocinas produzidas pelo tumor ou liberadas pelo sistema imune como resposta à presença do câncer, bem como outros produtos do tumor que promovem lipólise e proteólise nesses pacientes (INUI, 2005).

Pacientes com câncer, freqüentemente, apresentam hipoglicemia associada ao baixo metabolismo tecidual de glicose. Porém, a glicólise anaeróbia,

que ocorre nas células neoplásicas em decorrência do elevado metabolismo glicídico nessas células, favorecerá o aumento do dispêndio energético do paciente, uma vez que o ciclo de Cori, que proporciona a conversão de lactato, alanina e glicerol em glicose, eleva o *déficit* energético aumentando ainda mais o estado caquético (CORI & CORI, 1925). O aumento da síntese de glicose, a partir de alanina e glicerol, decorre do aumento da gliconeogênese hepática (INUI, 1999; TISDALE, 1997, 1999 e 2000).

A perda de tecido adiposo, originado do aumento da lipólise, é outro fator comum em pacientes com câncer. A mobilização de ácidos graxos do tecido adiposo pode ocorrer antes da perda de peso, devido à presença do fator de mobilização de lipídeos (LMF) produzido pelo tumor (TISDALE, 2000).

A massa corporal magra, em particular musculatura esquelética, diminui em proporção direta ao aumento da massa neoplásica. Assim, redução da síntese e aumento da degradação protéica - ou seja, o aumento do *turnover* protéico total corpóreo - têm sido freqüentemente observado nos pacientes com câncer (INUI, 1999; TISDALE, 2000), sendo o principal fator responsável pela redução do tempo de vida desses pacientes. A perda de tecido muscular leva à fadiga, fraqueza, atrofia muscular e comprometimento de diversas funções, tais como as respiratórias e cardiovasculares (MULLIGAN & BLOCH, 1998).

Os mecanismos que levam à indução da perda muscular provocada pelo tumor ainda não foram totalmente elucidados. Sabe-se que muitos processos são mediados pela redução da ingesta alimentar, devido à ação de citocinas proinflamatórias e do fator de indução de proteólise (AL-MAJID et al., 2001).

Exercício Físico e Câncer

A fadiga é um dos sintomas mais severos nos pacientes com câncer comprometendo, assim, a força, a resistência e a perda muscular, além de originar seqüelas psicológicas (DIMEO et al., 1998; AL-MAJID et al., 2001; LUCÍA et al., 2003; THORSEN et al., 2003). O exercício aeróbio aumenta a *performance* física, preserva as reservas corpóreas, melhorando, pois, a qualidade de vida de pacientes portadores de câncer (CREVENNA et al., 2003).

O exercício físico de intensidade moderada em animais diminuiu a incidência de tumores transplantados, reduziu os sintomas neoplásicos, como também o surgimento de metástase e o crescimento tumoral (BACARAU et al., 2000). DANERYD et al. (1995) observaram que exercício físico voluntário em ratos implantados com tumor pode adiar o quadro de anorexia e caquexia. Além disso, o exercício físico aumentou a taxa metabólica, induziu a adaptação da biogênese da mitocôndria no músculo esquelético e aumentou a capacidade antioxidante (DANERYD et al., 1990 e 1995).

Modificações no estilo de vida podem afetar o estado oxidante/antioxidante. Dessa forma, o exercício físico pode aumentar os mecanismos antioxidantes do corpo (ROBERTS & BARNARD, 2005), contribuindo para diminuir o risco de câncer de pulmão em ratos, por aumentar atividade de enzimas antioxidantes pulmonares (DUNCAN et al., 1997). Estudos mostram que o exercício físico aumenta o consumo de oxigênio - marcador da capacidade funcional - em 40%, reduzindo a náusea, depressão e a fadiga e, conseqüentemente, melhorando a qualidade de vida em mulheres com câncer de mama (AL-MAJID et al., 2001). Por outro lado, a taxa de síntese de proteína

aumenta após o exercício físico, indicando aumento na atividade de fatores de iniciação eucarióticos, que podem ser importantes na regulação global da taxa de síntese de proteína (FARRELL et al., 2000; KIMBALL et al., 2002).

Além disso, o exercício físico promove o aumento do consumo de glicose, diminuindo, assim, os níveis de glicose e insulina circulantes e, conseqüentemente, reduzindo a oferta desse substrato às células tumorais (BACARAU et al., 2000, ANTHONY et al., 1999). A elevada concentração dos hormônios corticosteróides e de citocinas induzida pelo exercício físico, aumenta a resposta imunológica, normalmente deprimida durante o desenvolvimento neoplásico (BACARAU et al., 2000). Como efeito positivo produzido pela atividade física, a resistência à insulina periférica, verificada no hospedeiro com câncer é também normalizada e bem como as concentrações dos hormônios catabólicos e anabólicos (DANERYD et al., 1995).

O exercício físico também melhora os depósitos de glicogênio e da massa protéica muscular. Desse modo, a estimulação da enzima glicogênio sintetase, observada no exercício físico, promove a síntese de glicogênio, com conseqüente aumento do depósito de carboidratos e disponibilidade de substrato energético durante os processos de intensa demanda (BACARAU et al., 2000). Assim, o exercício físico, quando bem supervisionado, pode ser uma excelente alternativa no auxílio do tratamento e reabilitação dos pacientes com câncer, melhorando as funções fisiológicas e reduzindo a ansiedade e a depressão (SEGAR et al., 1998; SEGAL et al., 2001).

Suplementação de aminoácidos e câncer

Os aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA), valina, isoleucina e leucina são substratos essenciais e importantes reguladores da síntese de proteína corpórea, representando a maior fonte de nitrogênio para síntese de glutamina e alanina no músculo. A síntese de glutamina e alanina, a partir dos BCAAs, é ativada em doenças severas, como o câncer (HOLECEK, 2002). O aumento da taxa de oxidação dos BCAAs induzido pelo câncer é comum em respostas inflamatórias sistêmicas, contribuindo, assim, para a perda muscular (HOLECEK, 2002).

A leucina é utilizada como fonte energética pelo músculo esquelético, podendo ser transaminada e oxidada para produzir acetil-CoA e, também, constituir-se como uma das substâncias precursoras da gliconeogênese hepática e da formação de alanina no músculo. Além disso, a leucina participa do processo de sinalização da transcrição inibindo a degradação e/ou estimulando a síntese protéica. Desse modo, a leucina previne a depleção da carcaça, preservando a massa protéica corpórea em ratos com tumor (PITKANEN et al., 2003; VENTUCCI et al., 2004). Estudo verificou que a suplementação de leucina melhorou o balanço nitrogenado, recuperando a massa corporal magra através da preservação da massa protéica muscular e do aumento da absorção intestinal, em ratas portadoras do tumor de Walker (VENTRUCCI et al., 2001).

Por outro lado, a concentração plasmática de glutamina (aminoácido não essencial) está aumentada em ratos com câncer devido, provavelmente, ao fato do seu consumo pelos linfócitos e enterócitos ser elevado em estados catabólicos (YOSHIDA et al., 2001). Assim, a suplementação desse aminoácido

pode ajudar a diminuir o crescimento tumoral, e melhorar a função imunológica e o balanço nitrogenado (HOLECEK, 2002; SHEWCHUK et al., 1997).

Estudo mostra que a suplementação de aminoácidos, glutamina, arginina e do metabólito da leucina, hidroximetilbutirato (HMB), modula o *turnover* protéico. A glutamina é responsável por regular a proteólise muscular e ambas, a glutamina e a arginina, têm efeitos estimulatórios para o sistema imunológico (MAY et al., 2002). Segundo YOSHIDA (2001), a glutamina é importante precursora na síntese de DNA, da enzima antioxidante glutatona e está indiretamente envolvida na síntese de proteína, reduzindo a perda de peso em pacientes com câncer.

Câncer, exercício físico e suplementação de aminoácidos

Pacientes com câncer são orientados à ingestão de dieta equilibrada, rica em nutrientes e a praticar atividades físicas, para que o tratamento anticâncer atenda às expectativas de sobrevida do paciente, sendo assim necessário a mudança em seu estilo de vida. (BROWN et al., 2003).

Uma vez que células do sistema imunológico utilizam grandes quantidades de glutamina e que a demanda do músculo esquelético e de outros órgãos por glutamina é alta, durante o exercício intenso, a associação desses dois fatores resultaria em grande *déficit* de glutamina para essas células, afetando a função das mesmas (COSTA ROSA, 2004). A suplementação de glutamina, associada ao exercício físico, além de reduzir o crescimento tumoral, aumenta a proliferação de células do sistema imunológico, resultando em melhora do estado caquético em animais implantados com tumor (SHEWCHUK et al., 1997).

A suplementação de aminoácidos e exercício físico, além de aumentar a síntese protéica e o balanço nitrogenado (WOLFE, 2000), também aumenta as concentrações de glutathione no fígado após o exercício. A enzima glutathione está envolvida no processo de detoxificação e defesa antioxidante, refletindo na habilidade do corpo em combater espécies oxigênio reativas e diminuir o estresse oxidativo (MARIOTTI et al., 2004).

OBJETIVOS

Assim de acordo com os dados da literatura, os objetivos desse trabalho visam analisar os efeitos da dieta semi-purificada contendo alto teor de leucina e/ou glutamina sobre as alterações bioquímicas relacionadas ao metabolismo protéico e corporal de animais jovens portadores do tumor Walker 256, submetidos ao exercício físico aeróbio. Dessa forma, espera-se que, aumentando a síntese protéica e preservando-a, melhore a massa corporal magra, as reservas energéticas, bem como as alterações conseqüentes ao estado caquético dos animais portadores do carcinossarcoma de Walker 256.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

No presente trabalho foram utilizados ratos Wistar, com 35 ± 2 dias de idade, provenientes do Centro de Bioterismo da UNICAMP, que receberam dieta e água *ad libitum* e foram submetidos a controle de luz claro-escuro (12/12 horas) e de temperatura ambiente (22 ± 2 °C). Manipulação dos animais e procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEa-IB-UNICAMP), processo nº 465-2.

Dietas

As dietas semipurificadas isocalóricas seguiram padrão AIN-93M (REEVES et al., 1993), contendo 18% de proteína normoprotéica (C), ou 18% de proteína acrescida de 3% de L-leucina - alto teor de leucina (L), ou 18% de proteína acrescida de 4% de L-glutamina - alto teor de glutamina (G), ou 18% de proteína acrescida de 3% de leucina + 4% de glutamina- dieta rica em leucina e glutamina (LG). O ajuste das dietas ricas em aminoácidos foi feito reduzindo a quantidade equivalente de carboidratos. Adicionou-se cerca de 70% de carboidratos (sacarose, dextrina e amido), 7% de gordura (óleo de soja) e 5% de fibra (micro-celulose purificada). As dietas foram complementadas com mistura vitamínica e de sais minerais, bem como cistina e colina. A dieta controle contém, na caseína utilizada como fonte de proteína, o equivalente a 1,1% de L-leucina e 25,5% de glutamina.

Implante tumoral

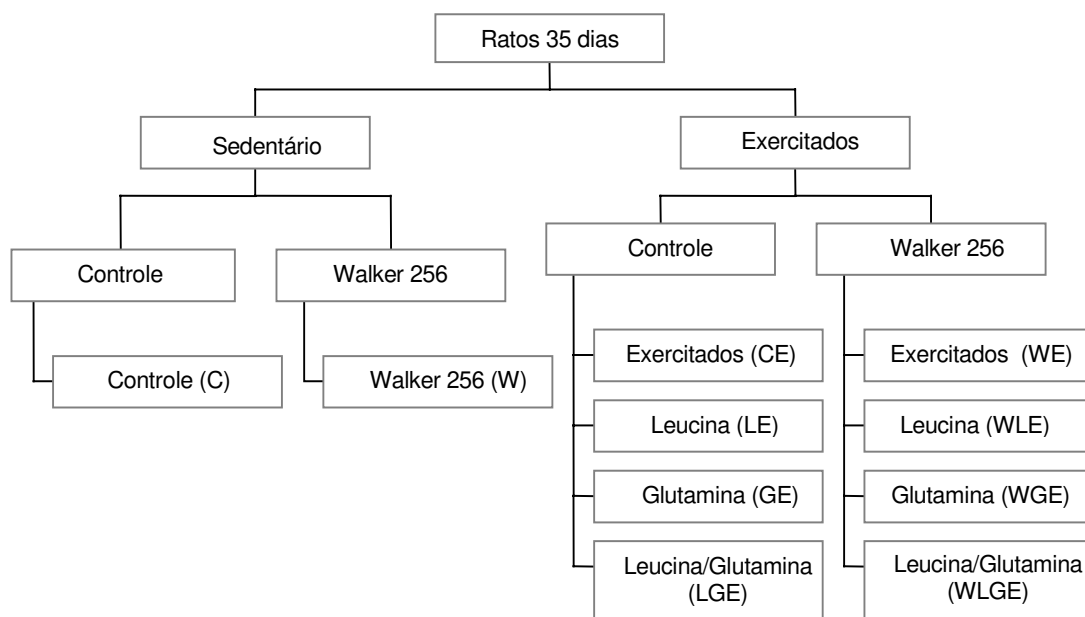
Implante do carcinossarcoma de Walker 256 (linhagem proveniente do Banco de Tumores Christ Hospital Line, Arthur D'Little, EUA) foi efetuado no subcutâneo da região do flanco direito, inoculando-se $2,5 \times 10^5$ células viáveis por inoculo, método descrito e padronizado em nosso laboratório (GOMES-MARCONDES et al., 1998).

Os animais dos grupos controle (não implantados com tumor) receberam inoculação de 0,5ml de solução fisiológica (0,9% de NaCl) no tecido subcutâneo do flanco direito.

A manipulação dos animais com tumor seguiu regras do comitê internacional de pesquisa em câncer (*United Kingdom Co-ordinating Committee on Cancer Research, UKCCCR*, 1998) (VALE et al., 2005).

Protocolo experimental

Os ratos foram distribuídos em 10 grupos experimentais, de acordo com a presença ou não do carcinossarcoma de Walker, submetidos ou não à suplementação de leucina e/ou glutamina e exercitados ou não (número mínimo de sete a dez animais por grupo), seguindo esquema 1:



Esquema 1: Distribuição dos grupos experimentais de acordo com tratamento nutricional, exercício físico e implante tumoral.

Os animais permaneceram em gaiolas metabólicas individuais, durante todo o período experimental. Os ratos e as dietas foram pesados três vezes por semana para determinar a evolução de ganho de peso e ingestão alimentar. O exercício físico consistiu em natação aeróbia leve-moderada sem sobrecarga por 10 dias; os animais foram colocados em tanque cheio de água com temperatura de $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$, iniciando-se no dia em que o tumor tornou-se palpável, com período inicial de 5 minutos, aumentando-se gradativamente 5 minutos de exercício por dia, atingindo o máximo de 30 minutos por dia (ASHA et al., 2003). O sacrifício ocorreu no 13^o e 14^o dias após implante tumoral, através de deslocamento cervical e, rapidamente após, foi colhido sangue para posteriores dosagens bioquímicas séricas de proteína totais, albumina, glicose, lípides totais, colesterol total, fração HDL colesterol, triacilglicerídeos e lactato.

Foram retirados e pesados coração e músculos gastrocnêmios (direito e esquerdo); armazenados à -20°C , para posteriores análises. Os músculos gastrocnêmios foram analisados quanto ao metabolismo protéico, síntese e degradação de proteína. Estresse oxidativo foi analisado nos músculos gastrocnêmios e cardíaco. As carcaças (que correspondem ao animal inteiro menos o trato gastrointestinal e tumor) de todos os ratos foram armazenadas em -20°C para posterior análise da composição corpórea: água, gordura, proteína total, nitrogênio total e colagênico.

ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Metabolismo protéico

Síntese e degradação protéica

Músculo gastrocnêmio foi retirado e colocado em tubos de perfusão com tampão Krebs-Hanseleits (KHB) (110mM NaCl; 25mM NaHCO_3 , 3,4mM KCl; 1mM CaCl_2 , 1mM KH_2PO_4 ; 1mM MgSO_4 , 5,5mM glicose, 0,01% albumina bovina sérica, pH 7,4) e incubado à 37°C com agitação contínua e gaseamento com 95% O_2 e 5% CO_2 (VARY et al., 1998; FEDELE et al., 2001).

Após 30 minutos de incubação, ao músculo foi adicionado novo tampão KHB suplementado com $\text{L}[^3\text{H}]$ -fenilalanina (Amershan) e fenilalanina não marcada com radioisotopo. Ao final de 2 horas de incubação, os músculos foram retirados do meio, secados, pesados, congelados em nitrogênio líquido e guardados em -20°C . O meio de incubação foi estocado, também à -20°C para posterior medida da fenilalanina marcada.

Os músculos foram homogeneizados em TCA a 30%, seguido de centrifugação 10.000 x g por 15 min a 4 °C. O *pellet* foi lavado duas vezes com TCA 10% para eliminar a radioatividade do sobrenadante. O *pellet* final foi resuspendido em NaOH 1N e incubado a 40 °C por 30 minutos. Alíquotas foram analisadas quanto ao teor de proteína (BRADFORD, 1976) e medida a radioatividade com líquido de cintilação em contador β . A taxa de síntese protéica foi calculada dividindo-se a concentração de fenilalanina incorporada no precipitado protéico pela radioatividade da fenilalanina no meio de incubação. A síntese protéica foi expressa em nmol de fenilalanina incorporada por miligrama de proteína por hora.

Músculo gastrocnêmio contralateral foi utilizado para análise da degradação protéica, expressa em nmol de tirosina liberada por miligramas de proteína por hora. A liberação de tirosina foi medida na solução de incubação do músculo, segundo método descrito por LORITE et al., (1998). O músculo foi previamente incubado por 30 min a 37°C com meio RPMI 1640 sem fenol, após este período o músculo foi incubado com solução KHB acrescido de ciclohexamida (inibidor de síntese protéica), por 2 horas a 37°C, gaseado com 5% CO₂ e 95% O₂. Após este período, alíquota do meio de incubação foi precipitada com TCA (30%) seguido por centrifugação à 10.000xg por 10 min. A dosagem de tirosina foi medida fluorimetricamente do sobrenadante segundo método de WAALKES & UDENFRIEND, (1957), utilizando-se reagente 1-nitroso-2-naphthol e ácido nítrico (20%).

Composição corpórea

A composição corpórea foi feita segundo o método padronizado pelo grupo de Metabologia Cirúrgica do Departamento de Técnica Cirúrgica da Faculdade de Medicina USP. Utilizaram-se os seguintes procedimentos:

Teor de água total foi obtido após secagem da carcaça do animal em estufa, durante o período mínimo de 48 horas, à temperatura de $50 \pm 5^{\circ}\text{C}$, até atingir peso constante. Por diferença do peso fresco e do peso seco obteve-se a quantidade de água, em gramas.

Teor de gordura total foi obtido por extração de gordura da carcaça seca com éter de petróleo (Ponto de Fusão 30° à 60° C), em extrator de sox leht, por período mínimo de 48 horas; por diferença de peso do animal seco com gordura menos o peso sem gordura obteve-se a quantidade de gordura, em gramas.

Teor de proteína total foi obtido após homogenização do rato seco sem gordura com tampão de homogenização, na proporção 1:3, e centrifugado a 2500 rpm. O sobrenadante foi digerido em 1N NaOH durante 12hs e, então, dosado proteína total por método de Lowry (LOWRY et al., 1951).

Teor de nitrogênio total da carcaça foi determinado após esta ser seca, desengordurada e triturada a pó; alíquota dessa carcaça foi submetida à digestão com ácido sulfúrico concentrado e sulfato de potássio; a alíquota digerida foi analisada colorimetricamente, com reativo de Nessler, para detecção do nitrogênio total, método de Kjeldahl (ALBANESE & ORTO, 1963).

Teor de nitrogênio colagênico da carcaça seca e desengordurada foi medido após tratamento com hidróxido de sódio (2N), ácido tânico (5%) e ácido

sulfúrico (2N) e após esse tratamento foi seguido o procedimento para determinação do nitrogênio pelo método Kjeldahl, obtendo-se a fração de nitrogênio colagênico (SPENCER et al., 1937).

Parâmetros bioquímicos séricos

Dosagem proteína e albumina: Soro de cada animal foi analisado quanto à concentração de proteína total e albumina, utilizando-se método colorimétrico por reação com biureto e verde bromocresol, respectivamente (DOUMAS et al, 1971).

Dosagem de glicose: A glicose sérica foi determinada utilizando-se método de reação da glicose-oxidase, através de colorimetria (BEACH & TURNER 1958).

Dosagem de lípides totais: O teor lípides totais sérico foi determinado utilizando-se fotolorimetria, com substrato sulfofosfovanilina (POSTMA, 1968).

Dosagem de triacilglicerídeos: O teor de triacilglicerídeos sérico foi analisado por método colorimétrico enzimático (JACOBS et al., 1960; KODISCHEK et al., 1969)

Dosagem de colesterol total: Metodologia para determinação do colesterol total sérico, baseia-se em reação colesterol oxidase através de colorimetria (ABELL et al., 1952).

Dosagem da fração colesterol-HDL (lipoproteína de alta densidade): A determinação da fração colesterol, lipoproteína de alta densidade (HDL), foi realizada por precipitação das frações VLDL, LDL colesterol com heparina/Mn⁺⁺ e

sulfato de dextran/ Mg^{++} , seguida de determinação da fração HDL, por reação colesterol oxidase, contra valor de colesterol total (GORDON et al., 1977).

Dosagem de lactato: O lactato sérico foi determinado colorimetricamente, a partir de método enzimático com lactato oxidase (KAPLAN et al., 1980).

Atividade das enzimas fosfatase alcalina, glutational-S-transferase e concentração de malondialdeído.

Homogenizados dos músculos gastrocnêmios (incubado para determinação de tirosina) e dos corações foram utilizados para análise do teor de proteína total (LOWRY et al., 1951) e determinação da atividade das enzimas fosfatase alcalina, glutational-S-transferase e concentração de malondialdeído.

Para análise da fosfatase alcalina foi utilizado reagente de 4-nitrofenil fosfato dissódico (p-NPP, 37mM), como substrato; e a atividade da enzima foi determinada nos tempos zero, 30, 60 e 90 minutos por espectrofotometria, expressa em nmol/ μ g proteína/min (MARTINS et al., 2001).

A atividade da glutational-S-transferase (GST) foi determinada utilizando-se o método de HABIG et al. (1974), usando-se como substrato 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB). A atividade foi mensurada durante 10 minutos, com leitura a cada minuto e expressa em nmol/ μ g de proteína/min.

A concentração de malondialdeído (MDA) foi determinada utilizando-se homogenizado do músculo gastrocnêmio e músculo cardíaco adicionados ao substrato N-metil-2-fenilindol (MPO) e HCl; a leitura colorimétrica foi realizada em

540nm com resultados expressos em nM/ μ g de proteína (UCHIYAMA & MIHARA, 1978).

Análise Estatística

Foram utilizados métodos estatísticos adequados, realizando-se as médias e erro padrão das médias e comparação dos múltiplos grupos por análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Bonferroni para detecção de diferenças significativas entre os grupos, para probabilidade menor que 5% (GAD & WEIL, 1994).

RESULTADOS

Parâmetros Corporais

Os ratos pertencentes ao grupo controle (C) mantiveram o ganho de peso corpóreo constante ao longo de todo período experimental (Figura 1), refletindo na progressiva e constante evolução ponderal (Figura 2), já que esses animais encontravam-se em pleno desenvolvimento corpóreo.

Em contrapartida, o grupo controle exercitado (CE) apresentou ligeira redução do ganho de peso ao final do experimento (Figura 1), o que proporcionou evolução do peso corpóreo (Figura 2) ligeiramente reduzido em relação ao grupo (C).

Por outro lado, os animais controles suplementados com leucina exercitados (LE), glutamina (GE) e leucina/glutamina (LGE) apresentaram ganho de peso constante (Figura 1), semelhante aos animais (CE); a evolução do ganho de peso mostrou-se progressiva e constante nesses grupos e ligeiramente superior ao C (Figura 2). Na Tabela 1 verificou-se que a porcentagem de peso corpóreo desses animais foi semelhante entre os diferentes grupos.

Houve acentuada redução do ganho de peso (Figura 1) nos grupos implantados com tumor (W) e, principalmente, no grupo tumor exercitado (WE) quando comparados aos demais grupos, que refletiu em significativa redução da evolução do peso ponderal (Figura 2) ao final do experimento. O peso final e a porcentagem do peso corpóreo dos ratos WE e WGE mostraram-se estatisticamente menores quando comparados aos ratos C (Tabela 1). Essas alterações acentuadas no peso corpóreo devem-se a grande espoliação das reservas do hospedeiro.

Os efeitos da suplementação nutricional, associados ao exercício físico e ao crescimento tumoral, mostraram que o grupo com tumor suplementado com leucina e exercitado (WLE) manteve o ganho de peso, porém reduzido em comparação ao grupo C, CE e LE. Os grupos com tumor suplementado com glutamina (WGE) e leucina/glutamina (WLGE) apresentaram pequena redução do ganho (Figura 1) ao final, que refletiu em redução da evolução do peso corporal (Figura 2) em relação aos grupos C, CE e LE, GE e LGE. Houve diminuição significativa da porcentagem de peso corpóreo nos grupos implantados com tumor W, WGE, WLE e WLGE, quando comparados aos grupos controles C, CE, LE, GE e LGE (Tabela 1).

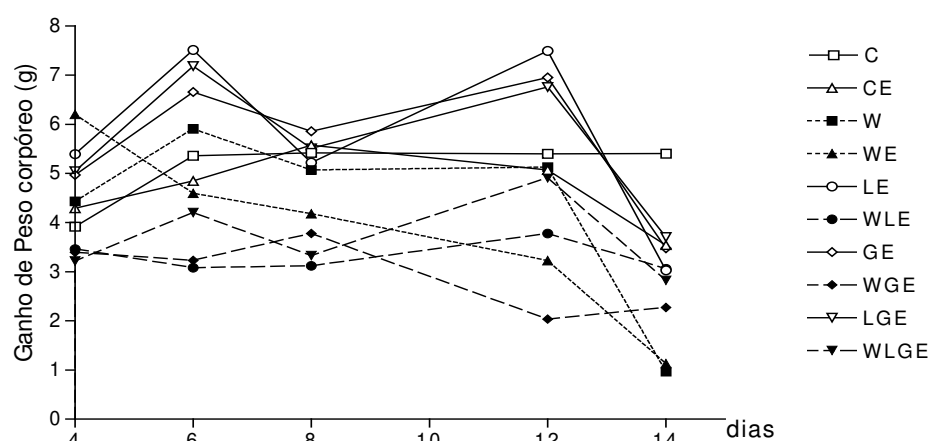


Figura 1: Ganho de peso corpóreo por dia de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Dados individuais e estatística correspondente estão apresentados na Tabela I, Anexo 1.

Estes dados sugerem que a suplementação de aminoácidos na dieta e exercício físico, quando associados à evolução tumoral, foram insuficientes para melhorar o ganho de peso corpóreo nesses grupos (WLE, WGE e WLGE) na

hipótese de contribuírem para melhorar o estado caquético do animal jovem portador de tumor.

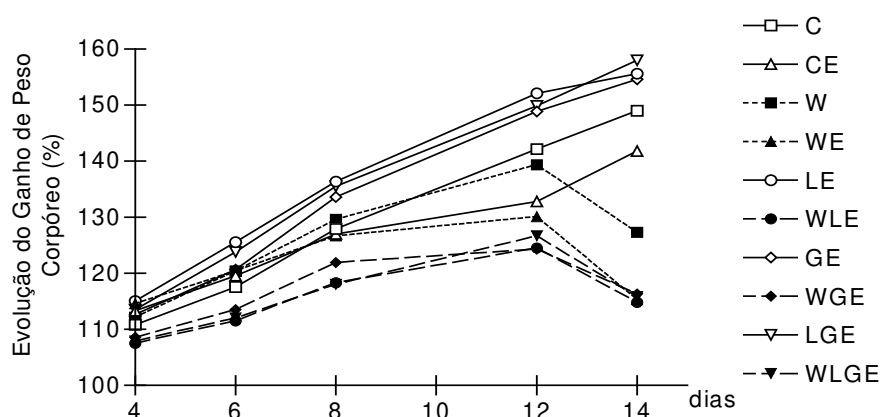


Figura 2: Evolução do ganho de peso corpóreo por dia de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Dados individuais e estatística correspondente estão apresentados na Tabela II, Anexo 1.

Não houve diferença estatística no peso absoluto do tumor entre os grupos implantados com tumor (Tabela 1). Porém, observamos que houve aumento significativo da porcentagem do peso tumoral no grupo implantado com tumor exercitado WE quando comparado aos demais grupos com tumor W, WLE, WGE e WLGE (Tabela 1). Podemos aventar a hipótese de que o exercício sem a complementação nutricional, leucina e/ou glutamina, não foi suficiente para prevenir o crescimento tumoral acelerado, onde o treino prevaleceu, possivelmente, como outro fator de estresse para o hospedeiro.

Tabela 1: Análise dos parâmetros corporais de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não.

Grupos	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Ganho Peso (%)	Peso Tumor (g)	Peso relativo tumor (%)
C (18)	143,5 ± 4,4 ^a	213,5 ± 7,5 ^a	149,0 ± 3,4 ^a		
CE (14)	136,6 ± 3,8 ^a	193,5 ± 9,3 ^a	148,8 ± 3,0 ^a		
W (10)	148,9 ± 5,4 ^a	188,1 ± 8,0 ^b	129,6 ± 2,1 ^b	19,9 ± 1,4	10,0 ± 0,6 ^a
WE (7)	144,7 ± 5,7 ^a	166,9 ± 8,2 ^b	114,0 ± 1,5 ^b	26,0 ± 2,5	15,8 ± 1,3 ^b
LE (7)	144,0 ± 3,3 ^a	223,8 ± 4,3 ^a	155,6 ± 3,0 ^a		
WLE (6)	156,0 ± 6,4 ^a	176,5 ± 6,3 ^b	113,5 ± 4,0 ^b	23,1 ± 2,0	10,3 ± 1,0 ^a
GE (7)	136,9 ± 2,6 ^a	211,1 ± 3,8 ^a	154,5 ± 4,1 ^a		
WGE (9)	150,9 ± 5,7 ^a	174,7 ± 5,8 ^b	112,4 ± 1,8 ^b	23,0 ± 1,4	11,6 ± 0,6 ^a
LGE (7)	141,7 ± 6,3 ^a	222,9 ± 7,0 ^a	1157,9 ± 3,3 ^a		
WLGE (11)	150,0 ± 5,9 ^a	172,1 ± 6,4 ^b	112,9 ± 1,5 ^b	22,2 ± 1,6	11,6 ± 0,8 ^a

Legenda: controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média ± erro padrão da média; () = número mínimo de animais por grupo. Para cada coluna, diferentes letras correspondem a diferença estatística significativa para $P < 0,05$.

Analisando-se a eficiência alimentar (Figura 3), que corresponde à razão entre o ganho de peso corpóreo total, em gramas, e à quantidade de alimento ingerido, em gramas, verificamos que no grupo C esse parâmetro foi constante ao longo do experimento. O grupo controle exercitado (CE) apresentou leve redução da eficiência alimentar, ao final do experimento, quando comparado com o grupo (C). Os animais exercitados suplementados com leucina (LE), glutamina (GE) e leucina/glutamina (LGE) apresentaram pequena redução da eficiência alimentar, ao final do experimento, quando comparados ao grupo controle (C). Esses dados

condizem com a evolução de peso corpóreo que se mostrou constante e progressiva ao longo do experimento.

Houve acentuada redução da eficiência alimentar, principalmente ao final do experimento, nos grupos implantados com tumor e exercitados (WE) e suplementado com leucina/glutamina exercitado (WLGE) e, muito, pronunciada no grupo W, quando comparados aos demais grupos, devido, provavelmente, ao estado de anorexia provocado pelo crescimento tumoral. O grupo tumor exercitado suplementado com leucina (WLE) manteve a eficiência alimentar; neste caso, a dieta suplementada com esse aminoácido associado ao exercício físico contribuiu para aumentar a eficiência alimentar nesses animais; já o grupo glutamina (WGE) apresentou redução da eficiência alimentar, porém menos acentuada do que os grupos W, WE e WLGE, e semelhante ao respectivo controle (CE).

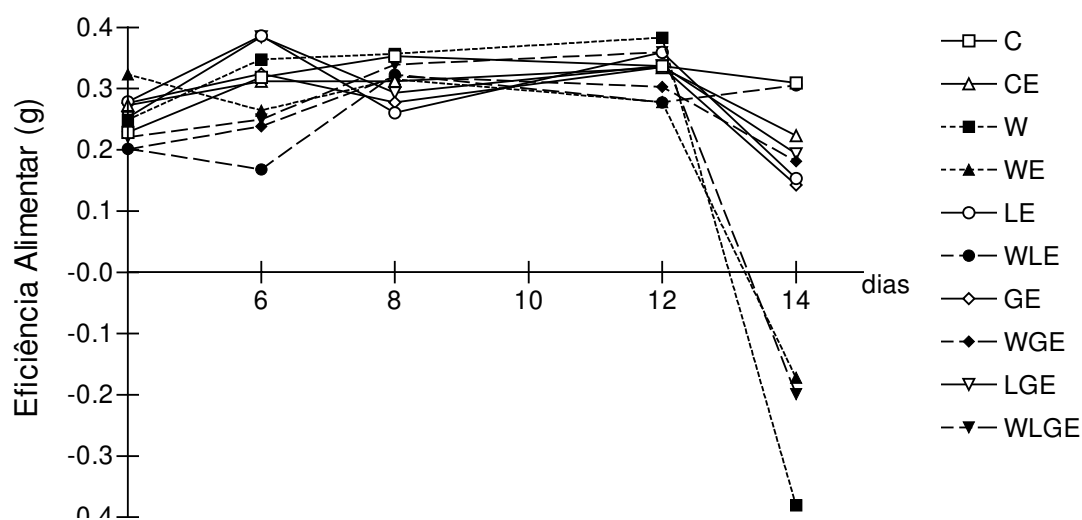


Figura 3: Eficiência alimentar de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Dados individuais e estatística correspondente estão apresentados na Tabela IV, anexo 1.

Os dados, apresentados na Figura 3, sugerem que a suplementação nutricional, com exceção dos WLGE, favoreceu a manutenção da eficiência alimentar; quando associada ao exercício físico (WE), melhorou esse parâmetro em relação aos ratos W, sugerindo possível efeito do exercício físico sobre o processo de anorexia.

Composição corpórea

Nossos resultados mostram que os ratos portadores de carcinossarcoma de Walker 256 apresentaram alterações na composição corpórea e nos parâmetros relacionados à síntese e degradação protéica do músculo gastrocnêmio.

Condizente com os dados relativos ao peso corpóreo, o peso da carcaça (que corresponde ao peso corpóreo final menos o peso das vísceras e do tumor) também apresentou-se reduzido, significativamente, nos grupos implantados com tumor quando comparados ao grupo C (Tabela 2).

A partir da carcaça dos animais dos diferentes grupos experimentais foram feitas as determinações da composição química corporal, verificando-se que todos os grupos portadores de neoplasia (W, WE, WLE, WGE e WLGE) apresentaram aumento significativo do teor de água corpórea quando comparados aos grupos controle C e controle exercitado CE (Tabela 2). Na presença do tumor, independente do esquema nutricional ou exercício, houve aumento de porcentagem de água devido aos processos de edema observado resultantes da desnutrição protéica provocada pelo crescimento tumoral.

A gordura, grande compartimento de reserva energética, foi preservada e aumentada nos animais exercitados, principalmente, nos animais com suplementação de aminoácidos LE, GE e LGE (59%, 47% e 18% respectivamente) quando comparados ao controle C. Esses dados sugerem que a dieta suplementada com aminoácidos proporcionou, aos animais LE, GE e LGE, provavelmente, aumento da síntese de lipídeos preservando assim a gordura total da carcaça (Tabela 2).

Por outro lado, o crescimento tumoral induziu mobilização da reserva de gordura de todos os grupos exercitados ou não. Observamos redução significativa do teor de gordura corpórea da carcaça (Tabela 2) nos animais submetidos a diferentes esquemas nutricionais WLE, WGE e WLGE (62%, 59% e 48% respectivamente) quando comparados aos respectivos controles LE, GE e LGE.

A perda de massa magra, mais especificamente da proteína corpórea, corresponde ao principal fator que propicia a redução do tempo de vida em pacientes com câncer e pode contribuir para anormalidades imunológicas agravando ainda mais, a qualidade de vida desses pacientes (LUNDHOLM et al., 1976).

Em nossos resultados, os grupos implantados com tumor apresentaram redução da massa corpórea magra MCM (W < 22%, WE < 18%, WLE < 20%, WGE < 24% e WLGE < 28%) quando comparados aos respectivos grupos controles (Tabela 2).

Tabela 2: Análise dos parâmetros corporais de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não.

Grupos	Peso da carcaça (g)	Teor de água (g)	Teor de gordura (g)	Massa corpórea magra (%)
C (16)	171,3 ± 6,3 ^a	66,6 ± 0,1 ^a	5,9 ± 0,4 ^a	47,1 ± 1,8 ^a
CE (15)	167,7 ± 6,6 ^a	66,0 ± 0,4 ^a	6,9 ± 0,4 ^a	43,3 ± 1,9 ^a
W (15)	141,9 ± 6,2 ^b	70,1 ± 0,4 ^b	3,6 ± 0,3 ^b	36,4 ± 1,5 ^b
WE (8)	143,5 ± 5,0 ^b	70,2 ± 0,9 ^b	4,7 ± 0,8 ^b	35,2 ± 1,7 ^b
LE (7)	180,1 ± 3,7 ^a	65,1 ± 0,4 ^a	9,4 ± 0,7 ^c	45,5 ± 1,0 ^a
WLE (7)	144,3 ± 5,5 ^b	71,6 ± 0,4 ^b	3,5 ± 0,3 ^b	36,0 ± 1,7 ^b
GE (7)	168,9 ± 2,9 ^a	65,4 ± 0,2 ^a	8,7 ± 0,3 ^c	43,6 ± 0,8 ^a
WGE (12)	140,3 ± 5,6 ^b	71,2 ± 0,5 ^b	3,5 ± 0,4 ^b	32,8 ± 0,7 ^b
LGE (7)	175,8 ± 5,3 ^a	66,2 ± 0,7 ^a	7,0 ± 0,6 ^a	45,9 ± 1,4 ^a
WLGE (11)	133,2 ± 5,5 ^b	71,0 ± 0,6 ^b	3,6 ± 0,4 ^b	33,1 ± 2,0 ^b

Legenda: controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média ± erro padrão da média; () = número mínimo de animais por grupo. Para cada coluna, diferentes letras correspondem a diferença estatística significativa para $P < 0,05$.

A análise da concentração de proteína total da carcaça mostrou que todos animais exercitados, com exceção dos LGE, apresentaram aumento da proteína total em relação aos ratos C (Tabela 3). Porém verificou-se tendência a redução da proteína total corpórea nos grupos W e WE, quando comparados aos animais C. A associação de suplementação nutricional e exercício físico promoveu manutenção de proteína total da carcaça nos grupos WLE, WGE e WLGE, valores esses semelhantes ao grupo C.

Tabela 3: Análise dos parâmetros corporais de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. Proteína total (ug/ul), nitrogênio total (mg/100g), nitrogênio colagênico (mg/100g).

Grupos	Proteína (µg/µl)	Nitrogênio total (mg/100g)	Nitrogênio colagênico (mg/100g)
C (16)	34,2 ± 0,9 ^a	134,6 ± 2,5 ^a	40,6 ± 3,9 ^a
CE (19)	39,5 ± 0,6 ^b	135,2 ± 2,2 ^a	45,7 ± 3,5 ^a
W (14)	30,5 ± 1,5 ^a	127,2 ± 3,2 ^a	30,2 ± 4,5 ^{a,b}
WE (7)	28,8 ± 2,2 ^a	118,8 ± 4,5 ^b	28,6 ± 8,1 ^{a,b}
LE (7)	37,0 ± 1,6 ^{a,b}	130,2 ± 2,1 ^a	54,8 ± 5,4 ^a
WLE (7)	34,1 ± 0,9 ^a	129,8 ± 3,1 ^a	23,7 ± 3,8 ^b
GE (7)	41,4 ± 1,5 ^b	128,5 ± 2,5 ^a	60,0 ± 3,8 ^a
WGE (12)	34,1 ± 1,6 ^a	122,3 ± 1,6 ^{a,b}	19,7 ± 3,5 ^b
LGE (7)	31,6 ± 0,9 ^a	137,9 ± 4,3 ^{a,b}	70,1 ± 5,8 ^a
WLGE (10)	32,4 ± 1,3 ^a	125,1 ± 3,4 ^{a,b}	21,1 ± 4,4 ^b

Legenda: controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média ± erro padrão da média; () = número mínimo de animais por grupo. Para cada coluna, diferentes letras correspondem a diferença estatística significativa para P < 0,05.

Os valores de nitrogênio total corpóreo (Tabela 3) foram semelhantes entre os animais de todos os grupos exercitados submetidos às dietas suplementadas com leucina e/ou glutamina. Quanto aos animais com tumor, houve diminuição significativa do nitrogênio total da carcaça no grupo tumor exercitado WE, em 11%, quando comparado aos grupos C e CE. Os demais animais com tumor apresentaram concentração de nitrogênio total semelhante ou levemente reduzida aos grupos não portadores de tumor (Tabela 3).

Analisando-se o conteúdo de nitrogênio colagênico, que representa a fração de nitrogênio extracelular, verificou-se efeito positivo do exercício associado às dietas suplementadas com aminoácidos nos grupos controles (LE, GE e LGE) quando comparados ao grupo C (Tabela 3), já que esses grupos apresentaram elevação do conteúdo de nitrogênio colagênico em cerca de 35, 48 e 37%, respectivamente. Quanto aos animais com tumor (W, WE, WLE, WGE e WLGE), o nitrogênio colagênico mostrou-se bastante reduzido quando comparados aos seus respectivos controles (C, CE, LE, GE e LGE) (Tabela 3).

Nos grupos com suplementação nutricional e exercitado houve aumento da síntese protéica no músculo gastrocnêmio, verificado pela incorporação de fenilalanina na proteína muscular, principalmente nos grupos LE, GE e LGE quando comparados aos grupos controles e exercitados (C e CE). Porém, os animais CE apresentaram síntese protéica muscular semelhante ao C (Figura 4).

Em nossos estudos, verificamos diminuição significativa da incorporação de fenilalanina nos grupos WGE e WLGE quando comparados aos demais grupos; embora o grupo WLE tenha apresentado diminuição da incorporação de fenilalanina quando comparado ao seu controle (LE), a taxa de síntese foi semelhante ao grupo controle C. Apesar de não haver diferença estatística, tanto no grupo com tumor (W), como também, no exercitado com tumor (WE), houve tendência a menor incorporação de fenilalanina no músculo gastrocnêmio desses grupos em relação ao C (Figura 4).

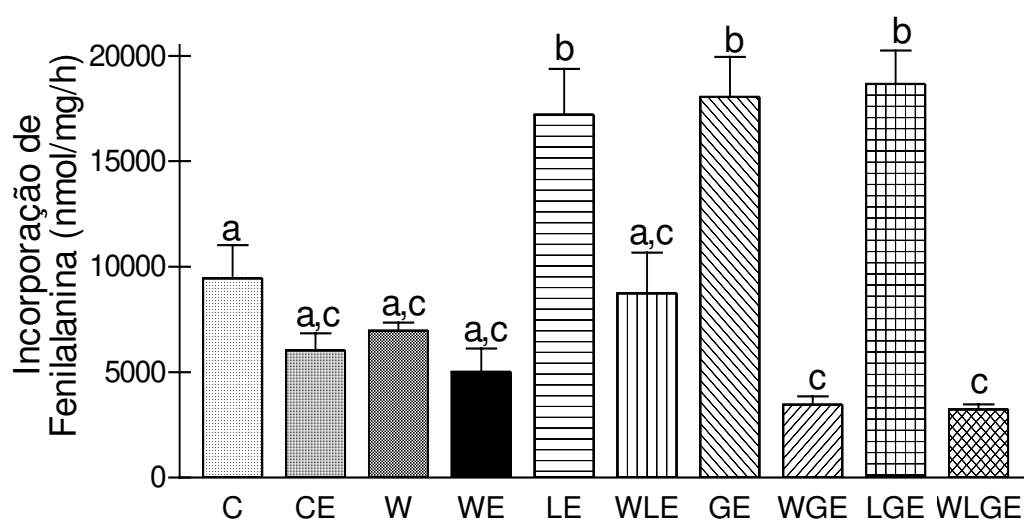


Figura 4: Incorporação de fenilalanina no músculo gastrocnêmio de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Diferentes letras correspondem a diferença estatisticamente significativa para $P < 0.05$.

Embora não haja diferença estatisticamente significativa, observou-se tendência ao aumento da liberação de tirosina, que representa degradação protéica, em todos grupos implantados com tumor (cerca de 19% nos W, 55% nos WE, 8% nos WLE, 86% nos WGE e 90% nos WLGE), quando comparados aos respectivos controles (C, CE, LE, GE e LGE) (Figura 5). Já no grupo WLE, houve menor liberação de tirosina quando comparado com os demais grupos implantados com tumor.

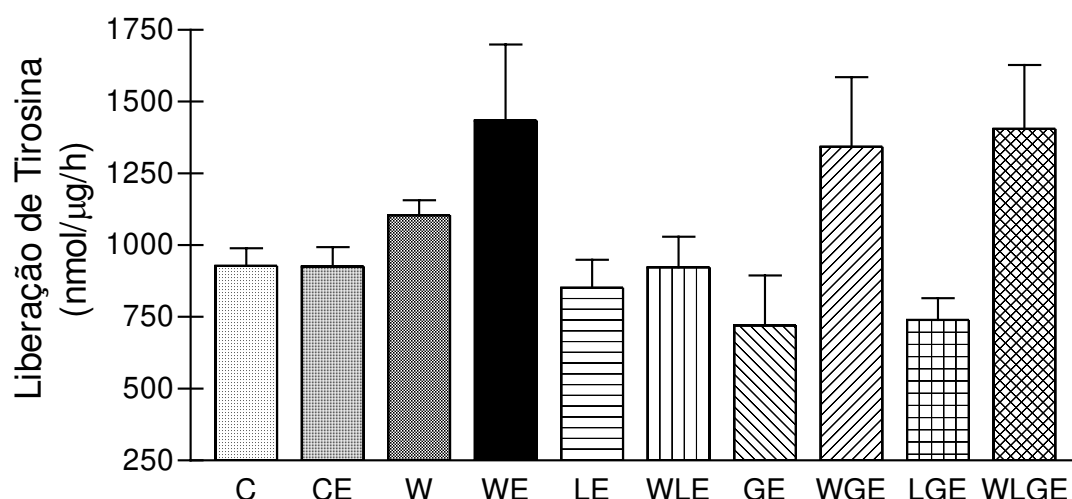


Figura 5: Liberação de tirosina do músculo gastrocnêmio de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média.

Estresse Oxidativo

Músculo Gastrocnêmio

O peso do músculo gastrocnêmio não variou significativamente entre os grupos controles (CE, LE, GE e LGE) quando comparados ao grupo C (Figura 6). Em contrapartida, nos grupos implantados com tumor (W, WE, WLE, WGE e WLGE) observamos diminuição significativa no peso do músculo gastrocnêmio quando comparados com o grupo C.

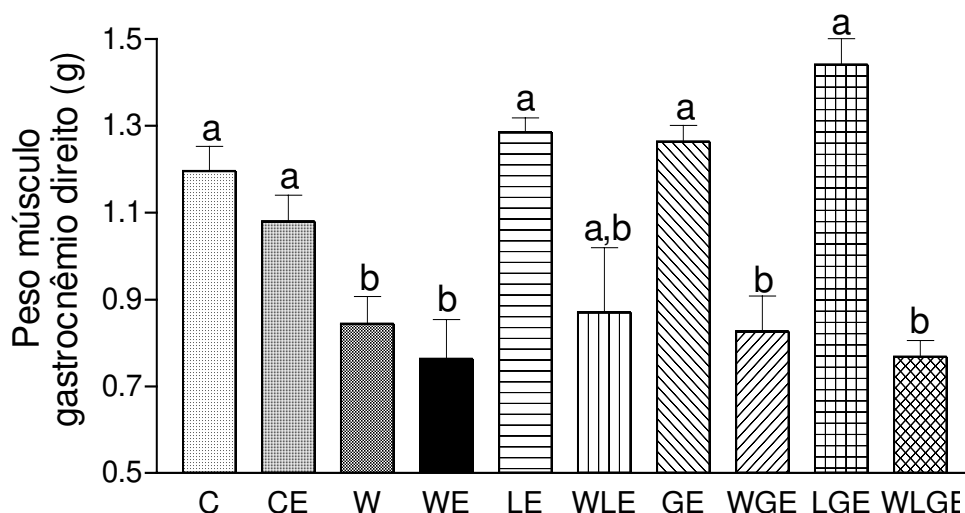


Figura 6: Peso do músculo gastrocnêmio direito de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Diferentes letras correspondem à diferença estatisticamente significativa para $P < 0.05$.

A concentração de proteína muscular foi estatisticamente semelhante entre os grupos LE e GE quando comparados com o grupo C, embora o grupo GE seja estatisticamente menor que o CE (Figura 7). Já no grupo LGE encontramos aumento significativo da proteína muscular quando comparado aos grupos controles C e CE. Houve diminuição da proteína muscular em todos os grupos implantados com tumor, suplementados nutricionalmente, ou não, e exercitados, ou não, (W, WE, WLE, WGE e WLGE) quando comparados aos grupos C e CE (Figura 7).

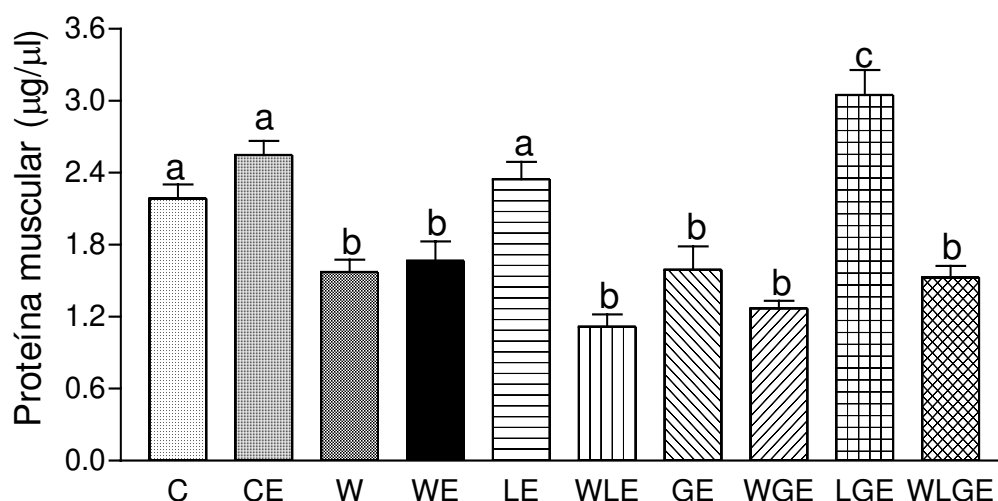


Figura 7: Concentração de proteína do músculo gastrocnêmio direito de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Diferentes letras correspondem à diferença estatisticamente significativa para $P < 0.05$

A atividade da fosfatase alcalina (FA), indicador de atividade celular, foi reduzida no músculo gastrocnêmio dos grupos controles suplementados com aminoácidos (LE, GE e LGE), quando comparados aos grupos controles C e CE (Figura 8). Nos grupos implantados com tumor, tratados ou não com dieta suplementada com leucina e/ou glutamina e exercitados ou não (W, WE, WLE, WGE e WLGE), também, verificou-se que a atividade da fosfatase alcalina estava diminuída quando comparada com os grupos controles C e CE (Figura 8).

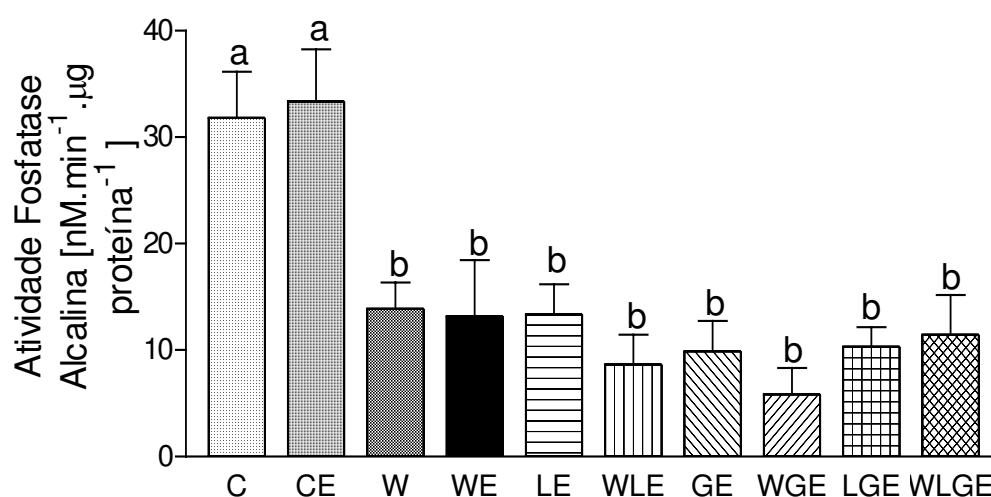


Figura 8: Atividade da fosfatase alcalina (FA), no músculo gastrocnêmio de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Diferentes letras correspondem à diferença estatisticamente significativa para $P < 0.05$.

Verificamos, também, redução da atividade da enzima antioxidante glutationa-S-transferase (GST) no músculo gastrocnêmio de todos os grupos implantados com tumor (W, WE, WLE, WGE e WLGE) quando comparados aos respectivos grupos controles (C, CE, LE, GE e LGE) (Figura 9). Notou-se que o menor valor de atividade da GST foi encontrado no grupo com tumor suplementado com dieta rica em glutamina.

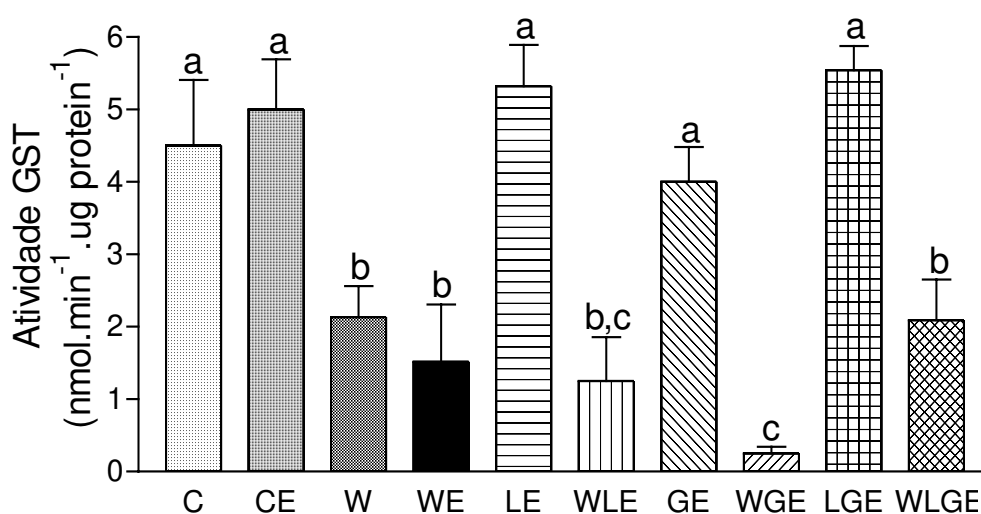


Figura 9: Atividade da glutathione-S-transferase (GST), enzima antioxidante, no músculo gastrocnêmio de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Diferentes letras correspondem à diferença estatisticamente significativa para $P < 0.05$.

Observamos aumento do conteúdo de malondialdeído (MDA), marcador de peroxidação lipídica de membrana celular, no músculo gastrocnêmio tanto nos grupos suplementados nutricionalmente (LE, GE e LGE), apesar de valores não mostrarem significância estatística, como também, nos grupos WE, WLE, WGE e WLGE, quando comparados aos controles C e CE (Figura 10). Já no grupo W houve aumento significativo do conteúdo de malondialdeído quando comparado aos grupos C e CE.

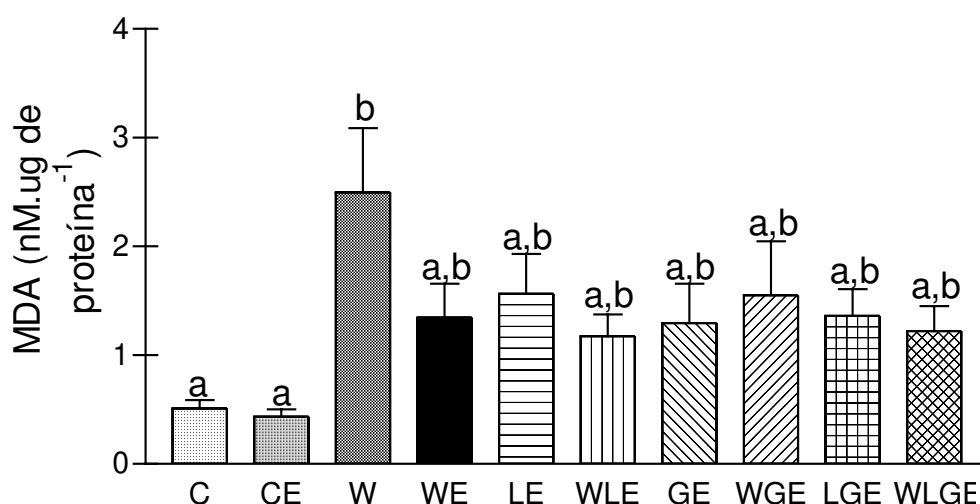


Figura 10: Conteúdo de malondialdeído (MDA, marcador de peroxidação de lipídeo) do músculo gastrocnêmio de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Diferentes letras correspondem à diferença estatisticamente significativa para $P < 0.05$.

Notou-se que a relação entre oxidantes e antioxidantes variou entre os diferentes grupos. Os grupos C e CE apresentaram razão MDA/GST igual a 0,11 e 0,08, respectivamente, sendo então tomados como valores de referência para o

músculo gastrocnêmio. Os grupos exercitados com suplementação nutricional (LE, GE e LGE) apresentaram valores próximos a 0,29, 0,32 e 0,24, respectivamente, indicando maior oxidação em relação aos fatores protetores.

Por outro lado, observou-se que o efeito do crescimento tumoral produziu maior estresse oxidativo em relação aos fatores protetores (o grupo W apresentou razão MDA/GST= 1,17) esse efeito foi menos acentuado quando associado ao exercício (o grupo WE apresentou razão MDA/GST =0,88), porém, na associação com suplementação nutricional, a razão MDA/GST foi bastante elevada no grupo WGE (6,14), com valores intermediários para os grupos WLE e WLGE (razão MDA/GST= 0,93 e 0,58, respectivamente).

Músculo Cardíaco

Observamos aumento do peso relativo do coração no grupo exercitado CE, quando comparado com o grupo C (Figura 11). Já os grupos exercitados suplementados com aminoácidos (LE, GE e LGE) observou ligeiro aumento, porém não significativo, quando comparados com o grupo C. Nos grupos com tumor exercitados (WE, WLE, WGE e WLGE) observamos aumento do peso relativo do coração quando comparados aos grupos C e W (Figura 11).

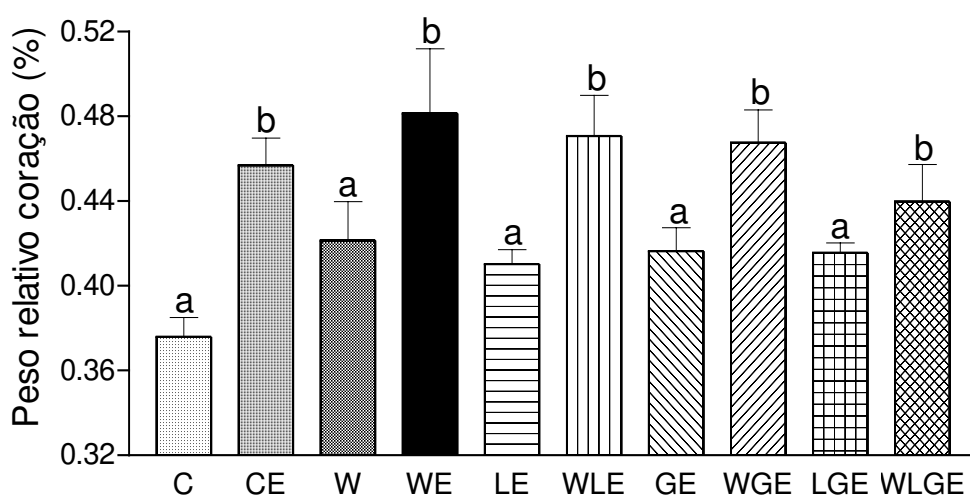


Figura 11: Peso relativo do coração de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Diferentes letras correspondem à diferença estatisticamente significativa para $P < 0.05$.

O teor de proteína cardíaca não diferiu entre os diferentes grupos experimentais, com exceção do grupo WLE, que apresentou redução significativa quando comparado ao seu respectivo controle LE (Figura 12).

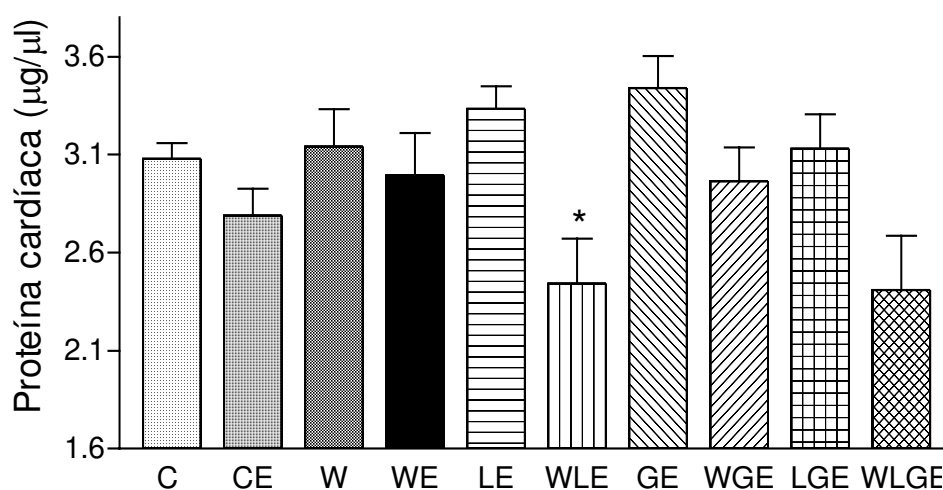


Figura 12: Concentração de proteína cardíaca de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. * Diferença estatística entre WLE e LE para $p < 0,05$.

Na musculatura cardíaca, verificamos que a atividade da fosfatase alcalina foi aumentada nos grupos LE, GE e LGE quando comparada com os grupos controle C e CE (Figura 13). Nos grupos implantados com tumor não houve diferença significativa quando comparados com o grupo C (Figura 13).

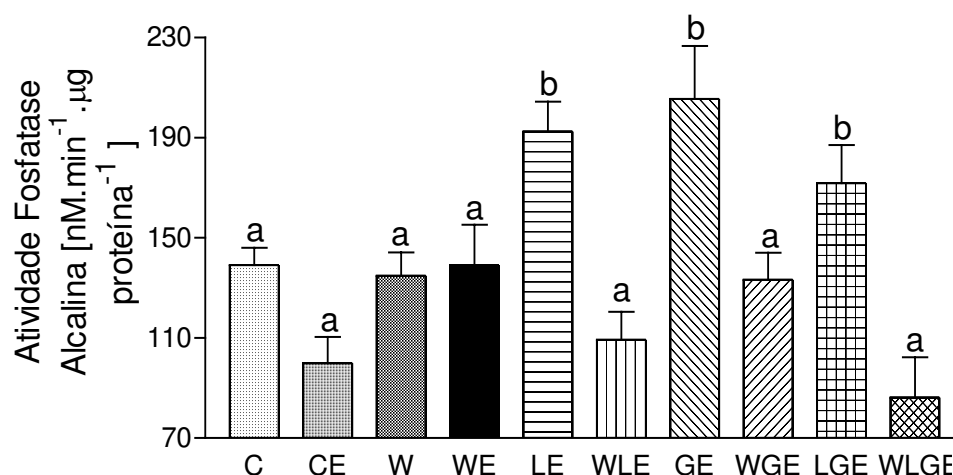


Figura 13: Atividade da fosfatase alcalina (FA), no músculo cardíaco de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Diferentes letras correspondem à diferença estatisticamente significativa para $P < 0.05$.

No músculo cardíaco, observamos que a atividade da GST foi elevada nos grupos controles exercitados e suplementados com aminoácidos (LE, GE e LGE), quando comparados aos demais grupos. Houve diminuição significativa da GST nos grupos WLE, WGE e WLGE, quando comparados aos respectivos grupos (LE, GE e LGE) (Figura 14).

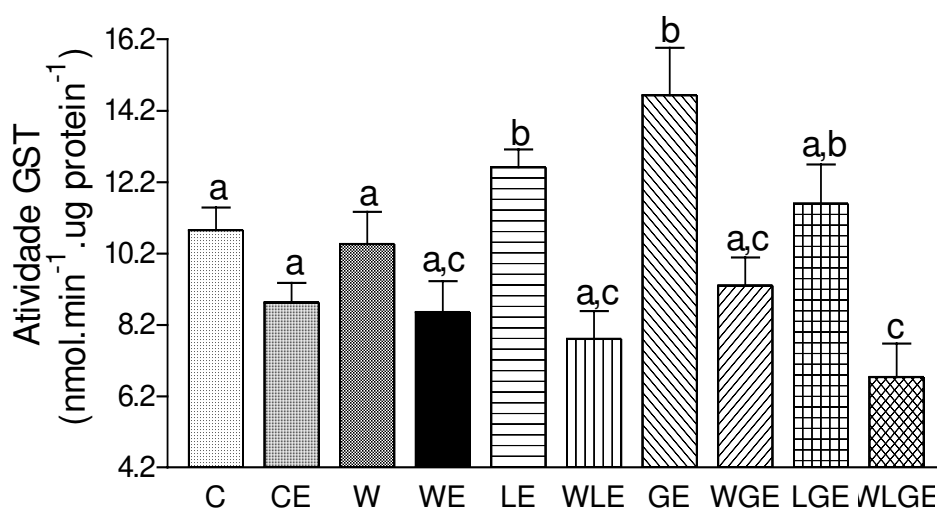


Figura 14: Atividade da glutathione-S-transferase (GST), enzima antioxidante, no músculo cardíaco de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Diferentes letras correspondem à diferença estatisticamente significativa para $P < 0.05$.

Houve aumento significativo da concentração de MDA no músculo cardíaco no grupo exercitado (CE) e também em todos os grupos portadores de tumor (W, WE, WLE, WGE e WLGE), quando comparados com seus respectivos controles (C, LE, GE e LGE) (Figura 15).

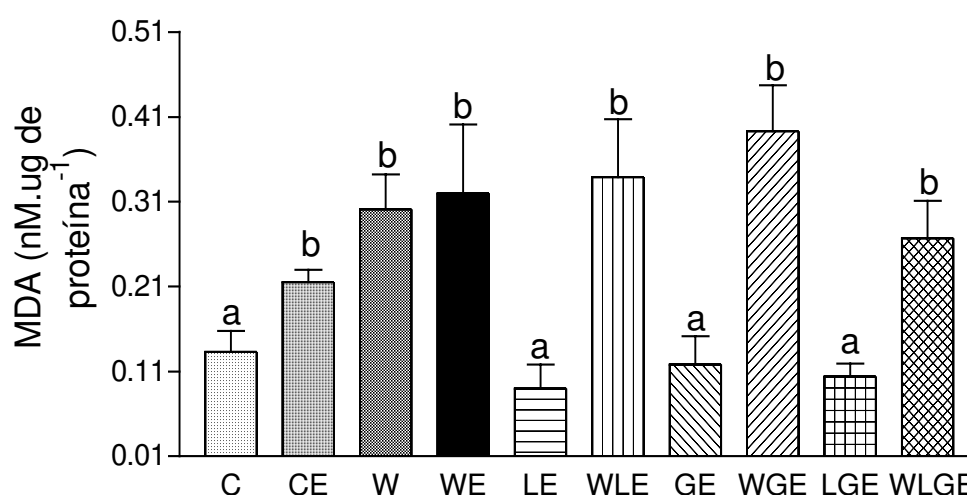


Figura 15: Conteúdo de malondialdeído (MDA, marcador de peroxidação de lipídeo) do músculo cardíaco de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Diferentes letras correspondem à diferença estatisticamente significativa para $P < 0.05$.

Analisando-se o músculo cardíaco quanto a razão entre produtos do estresse oxidativo (MDA) e fatores antioxidantes (GST), verificou-se que o grupo exercitado (CE) apresentou razão aumentada (0,027) em relação ao controle (C=0,013) e todos os animais exercitados e submetidos à suplementação de aminoácidos (LE,GE e LGE) apresentaram razão menor que o grupo C (0,007;

0,008 e 0,008, respectivamente). Por outro lado, o crescimento tumoral promoveu aumento expressivo da razão MDA/GST (valor de 0,025 no grupo W) e quando associou-se ao exercício físico e suplementação de aminoácido essa razão elevou-se acentuadamente (WE=0,037; WLE=0,039; WGE=0,038 e WLGE=0,039), mostrando elevada produção do fator oxidante em relação ao antioxidante.

Perfil sérico

As concentrações de proteína (Figura 16) e albumina (Figura 17) sérica apresentaram-se reduzidas em todos os grupos implantados com tumor (W, WE, WLE, WGE e WLGE) quando comparada com os demais grupos (C, CE, LE, GE e LGE, respectivamente), embora a concentração de proteína total sérica no grupo WLE não tenha sido estatisticamente diferente quando comparada ao grupo C e CE. Quanto à concentração de globulina (Figura 18) não houve diferença significativa entre os diferentes grupos.

A proteína total sérica (Figura 16) foi reduzida nos grupos W e WE em cerca de 34 e 14% respectivamente, em relação aos respectivos grupos controle C e CE. Porém, o grupo exercitado (WE) o decréscimo de proteína total sérica não foi tão acentuada como no W.

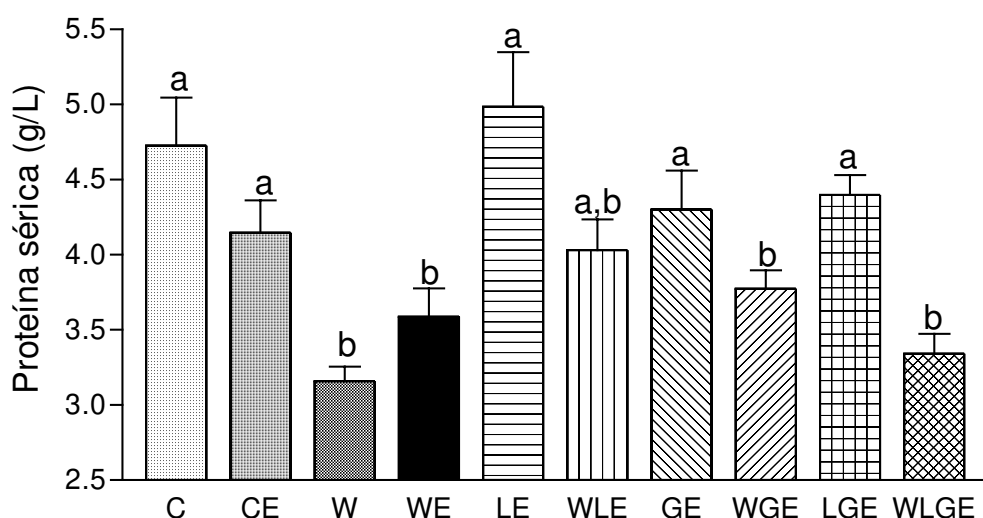


Figura 16: Concentração de proteína sérica de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Diferentes letras correspondem à diferença estatisticamente significativa para $P < 0.05$.

Por outro lado, a suplementação nutricional associada ao exercício físico exerceu efeito benéfico principalmente no grupo alimentado com dieta rica em leucina e rica em glutamina; o grupo WLE apresentou proteína total reduzida em cerca de 18,3% quando comparado ao grupo LE; o grupo WGE reduziu 14% em relação ao GE e o grupo WLGE reduziu 23% em relação ao LGE; nesses grupos os valores de proteína total apesar de reduzidos foram próximos ao grupo CE (Figura 16).

A concentração de albumina (Figura 17) foi significativamente reduzida em todos os grupos implantados com tumor, independente do esquema nutricional e exercício físico. No grupo com tumor, W, o valor de albumina foi acentuadamente diminuído (33%) em relação ao grupo C.

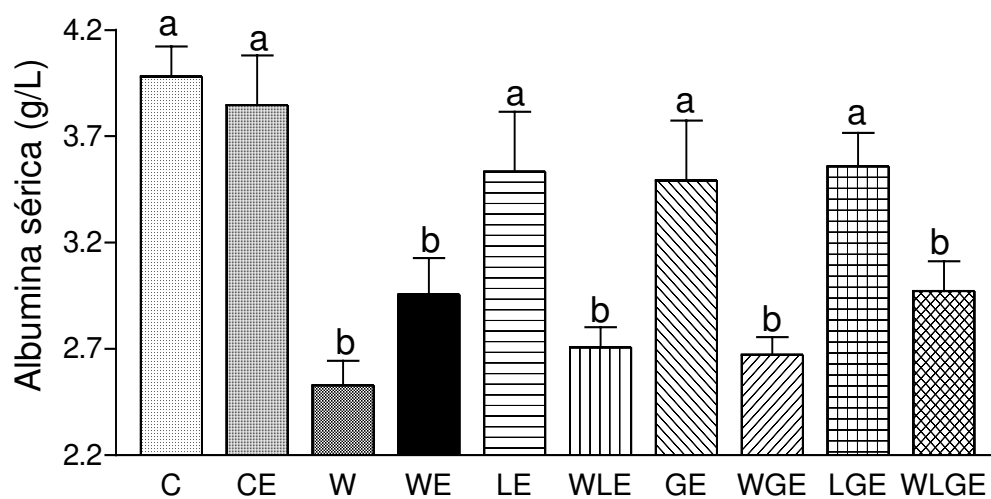


Figura 17: Concentração de albumina sérica de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Diferentes letras correspondem à diferença estatisticamente significativa para $P < 0.05$.

Tanto os grupos exercitados como os animais portadores de tumor apresentaram valores similares de globulina sérica (Figura 18).

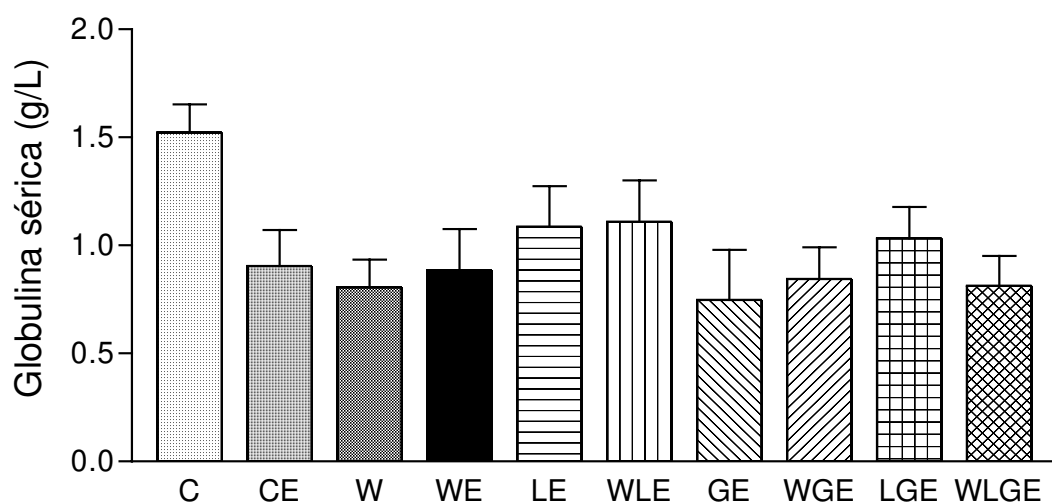


Figura 18: Concentração de globulina sérica de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média.

Houve redução significativa no teor de glicose nos ratos implantados com tumor (W, WE, WLE, WGE e WLGE) em relação aos respectivos controles (C, CE, LE, GE e LGE) (Figura 19). Vale a pena ressaltar que, no grupo portador de tumor e alimentado com dieta rica em leucina (WLE), a redução da glicemia não foi tão pronunciada como nos demais grupos.

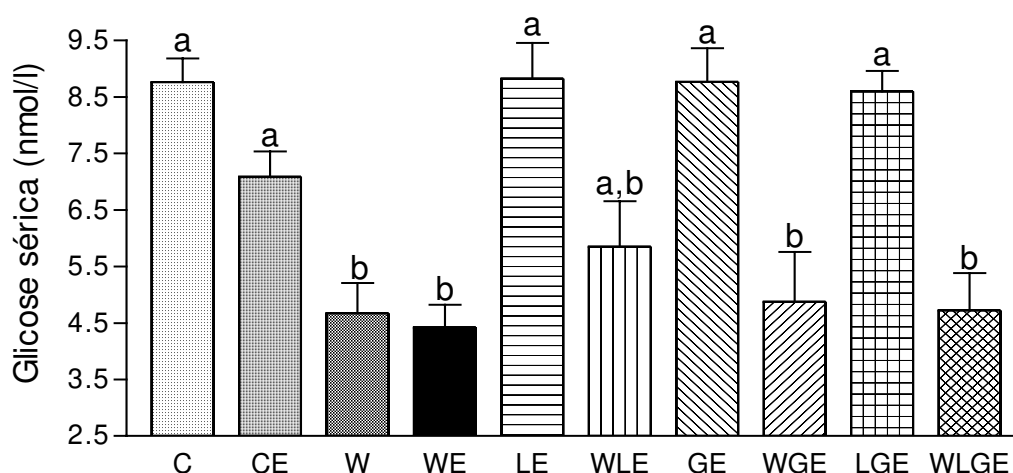


Figura 19: Concentração de glicose sérica de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Diferentes letras correspondem à diferença estatisticamente significativa para $P < 0.05$.

Observamos que concentração sérica de lípidos totais (Figura 20) não apresentou diferença significativa nos grupos implantados com tumor (W, WE, WLE, WGE e WLGE) quando comparados aos grupos controles C e CE. Já nos grupos controles exercitados suplementados com leucina e/ou glutamina (LE, GE e LGE), observamos aumento sérico dos lípidos totais.

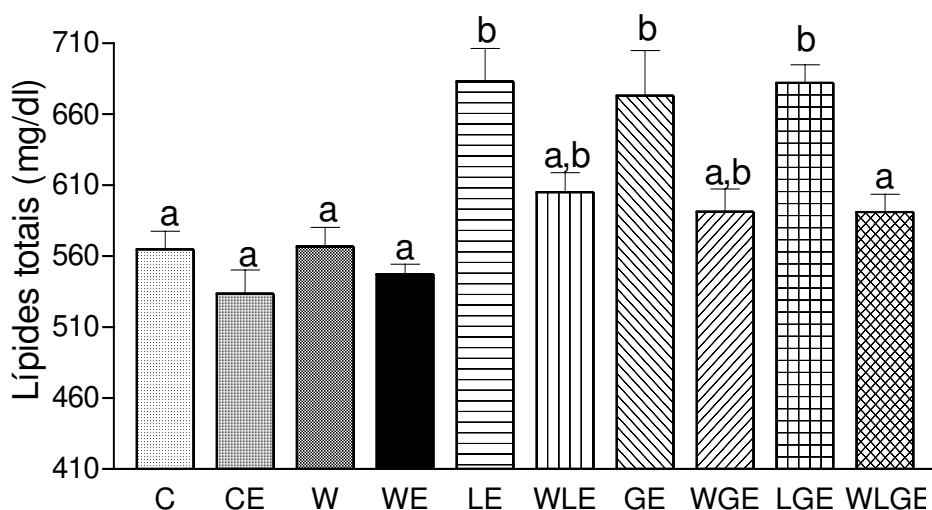


Figura 20: Concentração de lípidos totais sérica de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Diferentes letras correspondem à diferença estatisticamente significativa para $P < 0.05$.

A concentração de colesterol sérico (Figura 21) foi semelhante entre os diferentes grupos exercitados e suplementados com aminoácidos, implantados ou não com tumor (LE, WLE, GE, WGE, LGE e WLGE) quando comparados com os grupos C e CE. No entanto, houve redução significativa da concentração de colesterol sérico nos grupos W e WE quando comparados aos demais grupos (Figura 21).

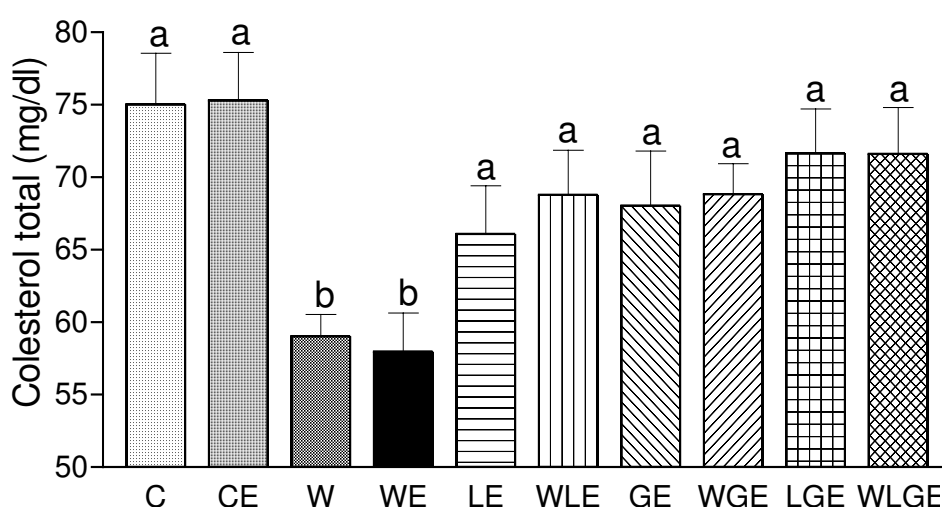


Figura 21: Concentração de colesterol total sérica de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Diferentes letras correspondem à diferença estatisticamente significativa para $P < 0.05$.

A fração colesterol-HDL (Figura 22) não apresentou diferença significativa entre os grupos controles exercitados (CE, LE, GE e LGE) quando comparados com o grupo C. Nos grupos implantados com tumor independente dos esquemas nutricionais ou exercício físico (W, WE, WLE, WGE e WLGE), verificamos diminuição da concentração sérica da fração de colesterol HDL quando comparados com os demais grupos controles (Figura 22).

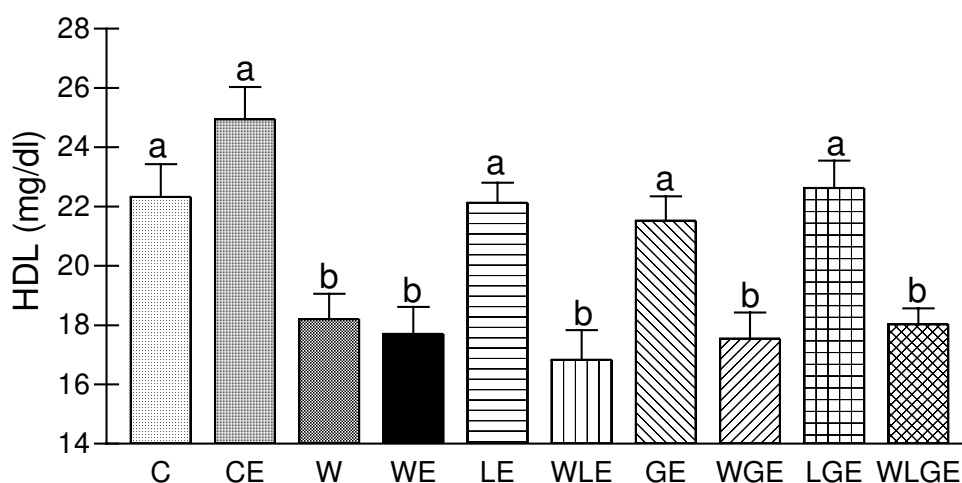


Figura 22: Concentração da fração HDL colesterol sérica de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média. Diferentes letras correspondem à diferença estatisticamente significativa para $P < 0.05$.

A concentração sérica de triacilgliceróis (Figura 23) não diferiu entre os diferentes grupos experimentais.

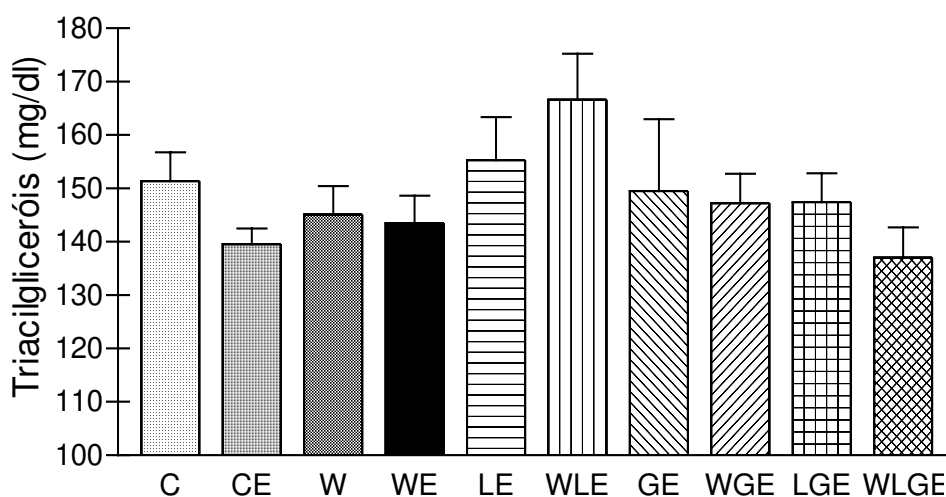


Figura 23: Concentração sérica de triacilgliceróis de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média $\pm$ erro padrão da média.

Houve diminuição significativa do lactato sérico no grupo LE (33%) quando comparado com o grupo C (Figura 24). Embora estatisticamente não diferente, observamos também tendência a diminuição do lactato nos grupos controles suplementados com aminoácidos e exercitados e GE e LGE (cerca de 20 e 15%) quando comparados ao grupo C. No grupo WLE, observamos também tendência a diminuição do lactato quando comparado com o grupo C e principalmente quando comparado aos demais grupos com tumor (W, WE, WGE e WLGE). Nestes grupos (W, WGE e WLGE), verificou-se tendência à elevação em comparação aos grupos C e CE (Figura 24).

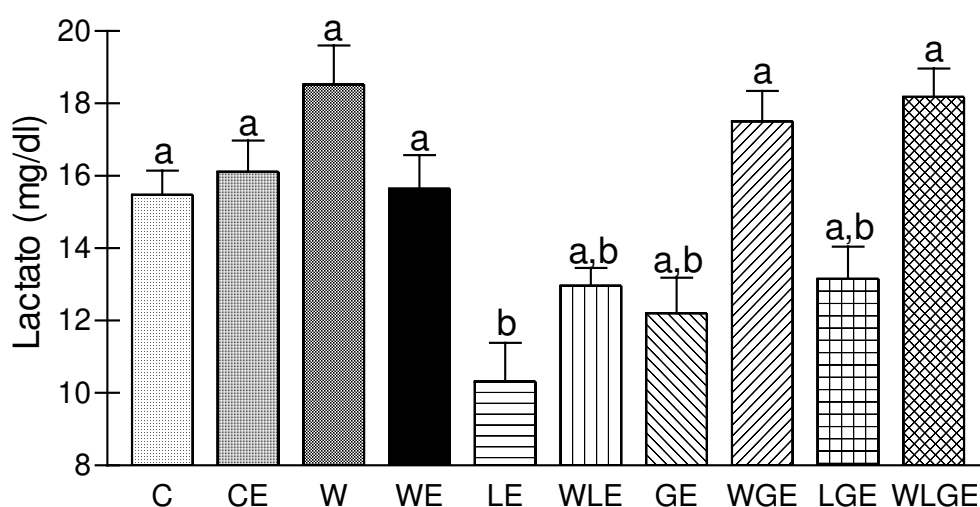


Figura 24: Concentração sérica de lactato de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker, submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados. **Legenda:** controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos em média + erro padrão da média. Diferentes letras correspondem à diferença estatisticamente significativa para $P < 0.05$.

DISCUSSÃO

Na maioria dos pacientes, o câncer pode causar alterações físicas e fisiológicas, promovendo diversas alterações sistêmicas não específicas como anorexia, perda de peso, astenia, fadiga ou febre. Muitas vezes essas alterações são agravadas com os tratamentos e terapias anticancer convencionais, como quimioterapia e/ou radioterapia. Esse processo leva ao desencadeamento da caquexia, onde um dos efeitos mais devastadores está relacionado à perda de peso. As perdas de reserva de gordura, cerca de 85%, e de proteína, principalmente muscular, chegando à redução em 75%, são marcadas quando o paciente já perdeu aproximadamente 30% do peso corporal (ARGILES, 2005; MEYENFELDT, 2005; TISDALE, 2005).

O câncer é considerado o maior problema de saúde pública em diversos países, sendo a segunda maior causa morte na Europa e Estados Unidos (ARGILES, 2005) e também no Brasil (INCA, Instituto Nacional do Câncer, 2005), e as intervenções terapêuticas promovem grande impacto nos prognósticos da doença. Além disso, o estado nutricional afeta grandemente o prognóstico do paciente com câncer.

Assim, sabendo-se que a leucina estimula a síntese protéica e inibe a degradação de proteínas musculares (GARLICK, 2005) e que a glutamina participa indiretamente do processo de manutenção da proteína corporal (MAY et al., 2002), propusemo-nos a verificar os efeitos da associação entre o estado nutricional do hospedeiro jovem com o exercício físico, observando que independente desses dois fatores, os ratos jovens implantados com tumor

apresentaram, ao término do período experimental, peso final e ganho de peso reduzidos quando comparados aos grupos controles.

Com relação ao peso corpóreo, nossos dados são condizentes aos da literatura pertinente, onde estudos prévios mostraram que o crescimento tumoral induziu à redução do peso corpóreo e da carcaça em ratos jovens e em ratas grávidas implantadas com tumor de Walker, suplementados ou não com dieta rica em leucina, porém, o peso tumoral não apresentou diferença significativa entre os grupos suplementados com dieta rica em leucina em relação aos controles (GOMES-MARCONDES et al., 2003; VENTRUCCI et al., 2001 e 2002).

Por outro lado, diferentemente dos nossos achados experimentais, pacientes com câncer que receberam suplementação combinada com arginina, glutamina e metabólitos da leucina (hidroximetilbutirato, HMB) apresentaram aumento do peso corpóreo e massa corpórea magra, sem diferença significativa na massa gorda, quando comparados com pacientes que não receberam essa suplementação (MAY et al., 2002). Contrariamente aos nossos achados, estudos de DANERYD et al. (1995) verificaram que, em ratos exercitados implantados com tumor, houve manutenção do peso corpóreo seco e decréscimo do peso absoluto e relativo do tumor em animais exercitados, reportando, assim, aos efeitos benéficos do exercício físico em animais com tumor. Em outro estudo experimental condizente aos nossos achados, ratos submetidos à natação e suplementados nutricionalmente com glutamina apresentaram redução do peso corpóreo final associado ao decréscimo da ingestão alimentar; nesses animais houve, também, redução do crescimento do hepatoma MH 7777, porém o

treinamento leve-moderado, sem suplementação nutricional de glutamina, não alterou significativamente o crescimento tumoral (SHEWCHUK et al., 1997).

Em nossos resultados verificamos que o exercício físico e suplementação nutricional não promoveram redução do crescimento tumoral quando comparados com o grupo W, resultados similares aos achados de SHEWCHUK et al. (1997). Porém, os animais exercitados sem suplementação nutricional (WE) apresentaram aumento do crescimento tumoral quando comparados ao grupo tumor sedentário W devido, provavelmente, ao curto período de exercício físico, a que esses animais foram submetidos.

Resultados controversos de JONES et al. (2005), que trabalharam com câncer de mama MDA-MB-231 em camundongas, mostraram que o crescimento tumoral, associado ao exercício físico e tratamento quimioterápico, apresentou-se mais acelerado e com evolução mais rápida quando comparados aos animais sedentários, sem ou com tratamento quimioterápico, diminuindo o tempo de sobrevivência desses animais.

Estudo, realizado pela Sociedade Americana de Câncer, publicou recentemente, diretrizes recomendando a todos os pacientes com câncer a prática de exercício físico durante o tratamento quimioterápico, uma vez que o exercício físico possui efeito de manter ou aumentar a qualidade de vida desses pacientes (BROWN et al., 2003). Ratos portadores de tumor submetidos ao programa de treinamento (corrida) retardaram o aparecimento da anorexia, comparado aos sedentários (DANERYD et al., 1990 e 1995). SCHWARTZ (2000) verificou que pacientes com câncer de mama, que aderiram ao exercício físico, apresentaram

melhoras consideráveis no ganho de peso e redução da incidência ou ausência de náusea ou anorexia, em relação às mulheres não exercitadas.

Esses dados foram condizentes aos apresentados no presente estudo, já que os animais exercitados apresentaram maior eficiência alimentar (WE e WLGE) ou eficiência positiva (WLE e WGE) em relação ao grupo W. Relatos da literatura apontam para a redução da ingestão alimentar provocada pela síndrome caquexia-anorexia (INUI, 1999; VENTRUCCI et al. 2001, 2002), culminando em redução da eficiência alimentar, como verificado nos animais com tumor, principalmente, nos grupos W e WE, como apresentado no presente trabalho.

O crescimento tumoral promoveu alterações na composição corpórea de animais implantados com tumor. Os estudos da literatura verificaram que a redução no peso corpóreo e da carcaça de ratas implantadas com tumor de Walker 256 estava associada à perda de massa protéica da carcaça (VENTRUCCI et al., 2001 e 2002). A perda de peso associada à perda de massa protéica é o principal fator para o desenvolvimento da caquexia e conseqüentemente morte em pacientes com câncer (TISDALE 1997).

Nossos dados são condizentes com os da literatura, onde a composição corpórea alterou-se proporcionalmente à evolução da neoplasia. Assim, com o crescimento do tumor de Walker ocorreu aumento significativo do teor de água, em todos grupos implantados com tumor. Resultados condizentes aos nossos foram verificados por VENTRUCCI et al. (2001), que observaram aumento no teor de água corpórea em ratas grávidas em pleno desenvolvimento corpóreo implantadas com carcinossarcoma de Walker, submetidas ou não a suplementação nutricional com dieta rica em leucina.

Na desnutrição há ocorrência de edema, anorexia e outros efeitos produzidos principalmente pela falta de incorporação de proteína e conseqüente hipoalbuminemia (CILIBERTO et al., 2005). Similarmente à má nutrição, principalmente aquela decorrente do crescimento neoplásico (GOMES-MARCONDES et al., 2003; MEYENFELDT, 2005), estudos relacionaram que o aumento da retenção hídrica que ocorre também no câncer, provavelmente, associava-se à hipoalbuminemia. Na presença do câncer, o hospedeiro sofre alterações metabólicas intensas, dentre elas o aumento do catabolismo protéico. Isto se reflete diretamente na redução do teor de proteína total associado à diminuição de albumina (GOMES-MARCONDES et al., 1998).

Estudo mostrou que a diminuição no teor sérico de proteína total, albumina e globulina em animais implantados com tumor, suplementados ou não com dieta rica em leucina, provavelmente, associava-se à queda da síntese hepática de albumina, elevada degradação da mesma e restrição alimentar induzida pela anorexia, em função do crescimento tumoral (VENTRUCCI et al., 2002). JOHNSON et al. (2005) verificaram redução do teor de albumina em pacientes com câncer durante a radioterapia, essa redução foi decorrente do aumento do processo inflamatório. Esses dados são condizentes aos verificados no presente estudo com animais exercitados, já que esses apresentaram aumento da retenção hídrica associada à redução da concentração de albumina sérica. No presente trabalho, nos animais do grupo W houve relação direta da redução da albumina (33%) com aumento de água corporal (25%) que foi mais preservada quando houve associação com exercício físico (albumina reduziu cerca de 21% em relação ao aumento de água corpórea que se elevou apenas em 20%).

Entretanto, a associação com a suplementação nutricional não apresentou padrão de relação direta ao aumento de água corpórea associada a hipoalbuminemia. Provavelmente, os aminoácidos suplementados na dieta exerceram efeitos benéficos quanto à manutenção da albumina sérica, porém não promoveram efeito benéfico quanto à prevenção da retenção de água corporal. COHN et al. (1981 e 1982) também verificaram que o efeito tumoral promoveu aumento da retenção de água e conseqüente edema corporal em pacientes com câncer.

Do mesmo modo, a caquexia resulta em grande perda de tecido adiposo, podendo chegar a 85% do conteúdo de gordura corporal. Certos tumores também produzem substâncias que estão presentes na circulação, tais como, fator de mobilização de lipídeos (LMF), capazes de induzir depleção de lipídeos (TISDALE, 2004). Em pacientes com câncer, que apresentaram quadro de caquexia severa, houve aumento da perda de gordura corpórea, acarretando importantes alterações funcionais e cognitivas, prejudicando a qualidade de vida desses pacientes (FOULADIUN et al., 2005). No presente estudo também houve redução do teor de gordura da carcaça em todos os grupos implantados com tumor. Segundo alguns estudos, a perda da massa gordurosa ocorre proporcionalmente ao crescimento neoplásico (TISDALE, 1999 e 2004; ARGILES, 2005). Relacionando-se a porcentagem do peso tumoral (10% nos W) à depleção de gordura, verificou-se que esta reduziu-se em 39% no W. O efeito do exercício físico foi interessante, já que apesar da porcentagem do peso tumoral ter sido maior (15% nos WE) a redução de gordura corporal foi menor (cerca de 31%) comparado aos animais W. Sugere-se que a associação entre crescimento

tumoral e exercício físico, provavelmente, beneficiou a carcaça, porém, induziu maior crescimento tumoral, como apontado na literatura (JONES et al., 2005).

Contrariamente ao que se esperava, a suplementação nutricional não beneficiou a manutenção de gordura corpórea. Por outro lado, a evolução tumoral também não foi beneficiada, mantendo-se a porcentagem do peso tumoral semelhante à do W (cerca de 10% do peso corpóreo). Esses dados condizem aos da literatura, que mostram redução do tecido adiposo em animais implantados com carcinossarcoma de Walker 256, inclusive naqueles submetidos à suplementação nutricional com leucina (VENTRUCCI et al., 2001).

A redução do teor de gordura da carcaça, decorrente do aumento da lipólise, é uma das características da caquexia e pode também ocorrer no começo do desenvolvimento tumoral (DROTT et al., 1989). Em pacientes com câncer, ocorre aumento da oxidação de lipídeos com redução de lípidos circulantes, devido, provavelmente, ao aumento da utilização dos ácidos graxos para o fornecimento de energia e crescimento tumoral (WATERHOUSE & NYE, 1961; FALCONER et al., 1994,).

Câncer-caquexia freqüentemente envolve prejuízo ao metabolismo de lipídeos e colesterol, ocorrendo redução do tecido adiposo, aumento de ácidos graxos livres e triacilgliceróis plasmáticos associados à redução da lipoproteína de alta densidade (HDL) e colesterol. O aumento da síntese de colesterol e baixos níveis de colesterol-HDL plasmático têm sido atribuídos, principalmente, ao provimento desse nutriente às células tumorais e conseqüente proliferação da neoplasia (COSTELLI et al., 1999). A redução do teor de gordura da carcaça juntamente com a manutenção dos lipídeos totais séricos nos animais implantados

com tumor, em nosso trabalho, sugere que o metabolismo de gordura foi prejudicado, isto, provavelmente, pela redução da atividade da enzima lipase lipoprotéica (LPL) no tecido adiposo, uma vez que, esta enzima é responsável pelo deslocamento dos ácidos graxos do sangue para os adipócitos para síntese de triacilgliceróis (COSTELLI et al., 1999). O aumento dos lípides totais nos grupos (LE, GE e LGE), juntamente com aumento do teor de gordura corpórea, dados apresentado neste trabalho, podem relacionar-se à conversão do excesso desses aminoácidos em gordura, devido provavelmente ao não aproveitamento desses pelo *turnover* protéico. Esses dados sugerem que, no caso dos animais com tumor, a associação do exercício à suplementação nutricional não foi suficiente à preservação e manutenção do metabolismo de lipídeos desses ratos com câncer. Na literatura pertinente, KIRAN et al. (2004) analisaram o perfil sérico de ratos submetidos à natação, com intensidade e duração diferentes, e verificaram que o exercício, de intensidade leve a moderada, 20min/dia, foi benéfico em reduzir os níveis de colesterol total, triacilgliceróis, LDL, lactato e aumentou HDL colesterol sérico.

O metabolismo de carboidratos durante o câncer também apresenta-se alterado, principalmente em função da elevada atividade metabólica das células tumorais. Nossos dados condizem com aqueles observados na literatura, onde mostraram elevada utilização de substratos, principalmente a glicose, preferencialmente pelo tecido tumoral, com conseqüente redução desse substrato na circulação sangüínea de pacientes com tumor (HOLM, 1995). Estudos verificaram também, associação a hipoglicemia e casos de acidose láctica em pacientes com linfoma de Burkitt (GLASHEEN et al., 2005). Dentre as inúmeras

alterações metabólicas que ocorrem no câncer caquexia, podemos destacar, a hipoglicemia, hiperlactacidemia, hipertriglicerolemia e depleção das reservas de glicogênio (TOGNI et al., 2003). Condizentes com os achados de TOGNI et al., (2003) e GLASHEEN et al., (2005), nossos dados revelaram que a associação entre câncer e exercício físico promoveu redução intensa da glicose sérica, principal substrato energético para diferentes tecidos do hospedeiro, como também, aumento da concentração sérica de lactato, devido, provavelmente, a glicólise anaeróbia das células neoplásicas e, possivelmente, em função do exercício físico não adaptado. A glicólise anaeróbia, que ocorre nas células neoplásicas, favorecerá o aumento do dispêndio energético do paciente, uma vez que, o ciclo de Cori, que proporciona a conversão de glicose-lactato-glicose, eleva o *déficit* energético, aumentando ainda mais o estado caquético (Cori & Cori, 1925). KIRAN et al. (2004) mostraram que, durante o exercício físico, a redução de lactato é devido, às adaptações aeróbias musculares. A suplementação nutricional, principalmente com leucina e também associada ao exercício, melhorou a glicemia e também a lactacidemia, indicando efeito benéfico desse aminoácido e, também, do exercício na condição câncer-caquexia.

Estudos mostram que a suplementação de aminoácidos associada ao exercício físico estimulam e mantêm a força e o crescimento muscular, mas é preciso avaliar a quantidade de aminoácidos a ser suplementado, avaliando-se o balanço entre a quantidade de nitrogênio ingerido e a quantidade excretada (WOLFE, 2000; MATTHEWS, 2005).

Por outro lado, muitos tumores utilizam grandes quantidades de glutamina como combustível metabólico; a diminuição no *pool* de glutamina pode

ser inibida através da suplementação nutricional de glutamina, que tem produzido efeitos positivos na função imune, reduzindo crescimento tumoral, aumentando a sensibilidade das células tumorais e conseqüentemente melhora do estado caquético (MARTIN III & KLEIN, 1998; WAITZBERG, 2004), porém no presente trabalho, a suplementação de glutamina não exerceu efeitos similares a literatura pertinente.

Neste trabalho, ratos jovens submetidos à suplementação nutricional com dieta rica em leucina e/ou glutamina aumentaram a concentração de nitrogênio total, como também da fração de nitrogênio colagênico, principalmente quando associado ao exercício físico.

Estudos mostraram redução do nitrogênio total e colagênico, que representa a massa extracelular, em ratos implantados com tumor, devido, provavelmente, a redução da síntese e aumento proteólise induzidos pelo crescimento tumoral (VENTRUCCI et al. 2001). Nossos dados são condizentes com os observados na literatura, pois os valores do nitrogênio total foram reduzidos, como também foi aumentada a mobilização do nitrogênio extracelular, representado pelo nitrogênio colagênico. Assim, a perda de massa corpórea magra que reflete a perda de nitrogênio corpóreo, dados verificados em nosso trabalho, pode ser correlacionada com a conseqüência do estado caquético, característico em pacientes com câncer que apresentam maior perda de proteína e da musculatura esquelética, conseqüentemente, pela redução da síntese protéica e aumento da sua degradação (TISDALE 1999 e 2004). VENTRUCCI et al. (2004) verificaram redução da síntese protéica, pela menor incorporação de

fenilalanina, e aumento da proteólise muscular, pela elevada liberação de tirosina, no músculo gastrocnêmio de ratas implantadas com tumor de Walker.

Com o crescimento tumoral, a síntese protéica e, conseqüentemente, a massa muscular encontram-se muito reduzidas. Como conseqüência da menor incorporação de leucina [^{14}C], fenilalanina [$4\text{-}^3\text{H}$] e valina [^{14}C] há, também, aumento do catabolismo desses aminoácidos, conforme observado em pacientes com carcinoma hepatocelular (O'KEEFE et al., 1990).

À perda muscular, durante o câncer avançado, está associada ao mal funcionamento do organismo, intolerância à quimioterapia e morte. Nossos resultados estão de acordo com BARREIO et al. (2005), que verificaram diminuição do peso do músculo gastrocnêmio em 12%, no quarto dia, e em cerca de 26% nos ratos caquéticos, no sétimo dia após implante tumoral. MACKENZIE et al. (2005) também observaram efeitos catabólicos do crescimento tumoral sobre as proteínas musculares esqueléticas, com diminuição do peso do músculo gastrocnêmio em ratos implantados com tumor, paralelo, ao aumento da degradação protéica muscular.

Estudos anteriores apresentaram efeitos benéficos da dieta rica em leucina na carcaça durante o crescimento tumoral (VENTRUCCI et al., 2001; GOMES-MARCONDES et al., 2003). Em nossos resultados não encontramos aumento expressivo da massa corpórea magra nos grupos implantados com tumor e suplementados nutricionalmente, embora, no grupo implantado com tumor exercitado e suplementado com leucina (WLE), podemos observar aumento da incorporação de fenilalanina e menor liberação de tirosina quando comparado com o grupo implantado com tumor (W). Assim, sugere-se que a suplementação de

leucina promoveu menor degradação de proteína muscular, apesar de não ter apresentado expressivo efeito estimulatório sobre a síntese protéica muscular, pois o conteúdo total de proteína carcaça, desses animais, foi similar aos ratos do grupo W e WE.

Nos demais grupos implantados com tumor e suplementado nutricionalmente, com glutamina, apenas, ou leucina/glutamina, houve redução da síntese protéica e, embora estatisticamente não diferente, houve tendência ao aumento da proteólise muscular. Provavelmente, os efeitos da suplementação nutricional não tenham sido eficientes, pois o tempo de exercício foi reduzido, não proporcionando, como apontado em vários trabalhos da literatura, efeito positivo do treinamento físico ao hospedeiro com câncer.

Em nosso trabalho observamos aumento da síntese protéica nos grupos sem tumor, controles exercitados e suplementados com aminoácidos. Exercício de *endurance* aumenta o gasto energético e promove o catabolismo de proteína e aminoácidos (SHIMOMURA, et al., 2004), assim, o aumento do fornecimento de aminoácidos após o exercício, é importante para que haja aumento da síntese protéica (TIPTON et al., 2003; FLAKOLL et al., 2004).

Estudo da literatura mostra aumento da síntese protéica *in vivo* e *in vitro*, em animais implantados com tumor e exercitados (DANERYD et al., 1995). Esses animais também tiveram aumento da degradação protéica *in vitro*, três horas após o exercício quando comparados aos animais implantados com tumor sedentários; seis horas após o exercício, esse quadro foi revertido, apresentando diminuição da degradação nos animais exercitados, indicando estado anabólico

associado ao aumento do metabolismo protéico na musculatura esquelética (DANERYD, 1995).

No presente trabalho um dos objetivos do exercício associado à suplementação nutricional em ratos com tumor foi, justamente, diminuir o suprimento dos aminoácidos gliconeogênicos para o crescimento tumoral, uma vez que, ocorre alta demanda desses substratos para o crescimento do tecido neoplásico (TISDALE, 2000). Assim, desviando-se esses aminoácidos durante a condição de exercício do hospedeiro, esses estimulariam a síntese protéica e indiretamente diminuiriam o crescimento tumoral.

Nossos dados condizem aos da literatura, onde mostram que a suplementação de aminoácidos, principalmente, a leucina, participa no processo de síntese protéica e pode inibir a degradação e/ou estimular a síntese, prevenindo a depleção da carcaça, preservando a massa protéica corpórea em ratos com tumor (GOMES-MARCONDES et al., 2003; PITKANEN et al., 2003; VENTUCCI et al., 2004).

O exercício físico, por sua vez, promove liberação de neutrófilos para circulação e ativação desses neutrófilos, durante o exercício, pode ativar os mecanismos de defesa antioxidante endógeno e não aumentar os marcadores de estresse oxidativo (PEAKE et al., 2004). Os tipos primários de oxidantes (espécies reativas de oxigênio e as espécies nitrogenadas), se não controlados, podem causar danos às membranas lipídicas das células e ser o principal evento do processo de perda muscular (BARREIRO et al., 2005).

Nossos resultados estão de acordo com GOMES-MARCONDES & TISDALE (2002) que mostraram perda da musculatura esquelética provocada pelo

câncer-caquexia associada com aumento do conteúdo de malondialdeído (MDA) nos músculos gastrocnêmio, sugerindo que o estresse oxidativo aumenta a degradação protéica no músculo esquelético por aumentar a expressão de componentes do sistema ubiquitina-proteossomo. A depleção da massa corporal magra é o principal fator na caquexia e essa depleção envolve não somente a musculatura esquelética, mas também afeta as proteínas cardíacas, resultando em alterações importantes na performance cardíaca (BARREIRO et al., 2005). Contrariamente, em nossos resultados não observamos diferenças estatística na concentração de proteína cardíaca nos diferentes grupos experimentais, com exceção no grupo WLE, que apresentou redução da proteína do miocárdio, em comparação ao seu controle LE. Porém, verificou-se acentuada produção de oxidantes em relação aos antioxidantes no miocárdio, como também, no músculo gastrocnêmio desses animais com tumor.

Estudos mostraram anormalidade acentuada na concentração de aminoácidos no plasma, especialmente daqueles concernentes a processos antioxidantes, associado à significativa redução na capacidade antioxidante, em pacientes com transplante de medula óssea. Essa redução é decorrente do aumento das necessidades tumorais desses aminoácidos, principalmente alanina e glutamina, utilizada pelo metabolismo celular neoplásico e conseqüente crescimento (PANGBOURN, 1985).

Outros estudos verificaram que animais implantados com tumor exercitados apresentaram aumento de enzimas antioxidantes, quando comparados com animais sedentários, e atividade física também reverteu o

quadro de anemia nesses animais, aumentando a concentração de hemoglobina e, conseqüentemente, a capacidade antioxidante (DANERYD et al., 1995).

Estresse oxidativo é definido como distúrbio no balanço pró-oxidante/antioxidante, em favor do primeiro, comprometendo a habilidade natural protetora, do organismo, em lidar com estes compostos reativos e prevenir seus efeitos adversos (SIES, 1985). Todas as células do nosso organismo encontram-se expostas, crônicamente, a fontes oxidantes, endógenas e exógenas, porém também estão equipadas com sistemas de defesa antioxidante (McCORD, 1993). Numa situação de exercício, tanto a demanda energética quanto o consumo de oxigênio estão aumentados; esse último pode aumentar, em até 20 vezes, em relação à situação de repouso, contribuindo para formação de espécies reativas de oxigênio (ASTRAND & RODAHL, 1986). Conseqüentemente, os sistemas antioxidantes no músculo esquelético aumentam em resposta ao exercício (LANG et al., 1987). As células musculares esqueléticas liberam radicais superóxido e geram radicais hidroxilas no fluido extracelular durante as contrações, sendo assim, o tecido que mais gera espécies reativas de oxigênio no exercício (JACKSON et al., 2004).

O crescimento tumoral casou, provavelmente, prejuízo à integridade da membrana celular muscular, conseqüentemente, agravado pela menor atividade celular, representada pela enzima fosfatase alcalina (CALHAU et al., 1999; DEVECI et al., 2002; OHYAMA et al., 2002) pois nos grupos com tumor e exercitados, observamos aumento no conteúdo de MDA e conseqüente redução do conteúdo antioxidante, representado por uma das enzimas dos sistemas

antioxidantes celular, atividade da glutathione-S-transferase (GST), na musculatura esquelética e também miocárdica.

Paralelamente, a atividade antioxidante de determinados aminoácidos, como leucina e glutamina (SAKAGAMI et al., 1998), suplementados em nosso trabalho, não foi suficiente para combater os efeitos oxidantes provocados pelo crescimento tumoral e exercício físico, mas em relação aos grupos controles sem tumor pudemos observar que a leucina e glutamina, associadas ao exercício físico, apresentaram efeito antioxidante positivo sobre os efeitos oxidativos do exercício físico quando comparados aos grupos com tumores exercitados e suplementados com leucina e/ou glutamina. O programa de atividade física, imposto no presente estudo, mostrou ser fator agravante ao estresse oxidativo quando associado ao crescimento tumoral, uma vez que a formação de radicais livres é proporcional à intensidade, duração e condicionamento ao exercício (LAMPRECHT et al., 2004). Assim, o gasto energético da atividade física é fator de extrema importância quando se trata do processo de estresse oxidativo, produzido pela atividade física, paralelo aquele provocado pelo crescimento tumoral, como apresentado em nossos resultados. O metabolismo energético é definido como a soma de reações químicas complexas e integradas; por meio delas, humanos e animais obtêm energia do ambiente e, assim, mantêm o funcionamento adequado de todos processos fisiológicos (MOLINA et al., 1995). Em situação de estresse metabólico, o gasto energético se altera. No trauma grave e na sepse, ocorre geralmente aumento do gasto energético (BIFFL et al., 2002) e a contribuição da atividade física para o gasto energético total pode ser muito variável.

Fator limitante da atividade física para pacientes com câncer é a presença freqüente de fadiga, que tem muitas causas, tais como, anemia, perda de peso, dor, distúrbio de sono, febre, infecção e depressão (GLASPY, 2001). Ao mesmo tempo, estudos mostram que a redução da atividade física está relacionada com obesidade sarcopênica em mulheres com câncer de mama, após o tratamento com cirurgia e quimioterapia adjuvante (DERMARK-WAHNEFRIED, 2001). Pacientes com anemia grave apresentam uma série de sintomas, tais como, letargia, reduzida tolerância ao exercício, dificuldade respiratória e palpitação. Isso pode ser devido ao reduzido fornecimento de oxigênio para os tecidos (GLASPY, 2001).

Em nosso trabalho não verificamos melhora do estado caquético nos ratos tratados com suplementação nutricional associada ao exercício físico, como proposto no início do estudo. Acreditamos, assim, que o tempo de exercício físico, mais especificamente programa de natação, no qual esses animais foram submetidos, foi insuficiente para adaptação ao condicionamento físico, conforme apontado nos trabalhos da literatura que sugerem mínimo de 8 semanas de protocolo de exercício físico (GOBATTO et al., 2002; RIBEIRO et al., 2004).

Acreditamos, também, que os efeitos positivos do exercício variaram significativamente devido, provavelmente, ao tempo de evolução tumoral, onde nos ratos jovens foi cerca de 15 dias. Segundo a literatura pertinente, o treinamento físico exerce efeitos positivos, ou até mesmo negativos, dependendo do estado em que se encontra o organismo, tais como, tipo e evolução do câncer, no presente estudo foi o carcinossarcoma de Walker, estágio da doença e o tipo de tratamento médico, como também, a natureza, intensidade e duração do

exercício e o estilo de vida do organismo hospedeiro (KNOLS et al., 2005). No presente trabalho, o efeito do treinamento físico pôde ser considerado como forma adicional de estresse ao hospedeiro. O exercício físico, quando bem supervisionado, e o acompanhamento nutricional podem atenuar o estado caquético em organismos portadores de neoplasia. Assim, esses achados apresentados no presente trabalho são de extrema importância para que se possa rever a forma, o tempo e o dispêndio energético do exercício de animais, principalmente jovens, com câncer.

CONCLUSÕES

O crescimento tumoral promove muitas alterações ao metabolismo dos ratos jovens, como: 1) redução do peso corpóreo e da ingestão alimentar no final dos experimentos; 2) alterações na composição corpórea química, como elevado teor de água corpórea, redução do teor de gordura total e diminuição do nitrogênio colagênico; 3) alteração no metabolismo protéico como: redução da síntese e aumento da degradação protéica muscular; 4) aumento do estresse oxidativo muscular esquelético e principalmente cardíaco; 5) redução dos teores séricos de proteína, albumina, glicose, colesterol e HDL nesses animais com tumor.

A suplementação nutricional, dieta rica em leucina e/ou rica em glutamina, associada ao exercício físico promoveu nos animais jovens com tumor: 1) ligeira melhora na eficiência alimentar; 2) manutenção do metabolismo protéico muscular com tendência à diminuição da degradação de proteína muscular esquelética e incorporação de fenilalanina similar ao grupo C.

Concluimos que a evolução tumoral associada ao efeito terapêutico do exercício físico não promoveu todos os efeitos benéficos ao hospedeiro jovem, relatados na literatura. Acreditamos que o tempo de exercício físico não foi suficiente para promover condicionamento ao treinamento nesses animais. Concluimos também que o tipo de tumor também é outro fator muito importante, já que alguns relatos literários mostraram efeitos estimulatórios do exercício sobre o desenvolvimento tumoral, principalmente no caso do carcinossarcoma de Walker, cuja evolução é bastante acelerada, sendo considerado não um adjuvante ao tratamento anti-câncer, mas um estressor agravante ao estado caquético do hospedeiro.

Bibliografia

ABELL L.L.; LEVY B.B.; KENDALL F.E. **A simplified method for the estimation of total cholesterol in serum and demonstration of its specificity.** *J. Biol. Chem.* 195(1):357-366,1952.

ADAMSEN L.; MIDTGAARD J.; RORTH M.; BORREGAARD N.; ANDERSEN C.; QUIST M.; MOLLER T.; ZACHO M.; MADSEN J.K.; KNUTSEN L.; **Feasibility, physical capacity, and health benefits of a multidimensional exercise program for cancer patients undergoing chemotherapy.** *Support Care Cancer.* 11(11): 707-716, 2003.

ALBANESE, A.A. & ORTO, L.A. **Protein and aminoacids.** In ALBANESE, A.A. *Newer Methods of Nutritional Biochemistry.* New York, Academic Press, 1(1): 84, 1963

AL-MAJID S.; MCCARTHY D.O. **Cancer-induced fatigue and skeletal muscle wasting: the role of exercise.** *Biol. Res. for Nurs.* 2:186-197, 2001.

ANTHONY J.C.; ANTHONY T.G. & LAYMAN D.K. **Leucine supplementation enhances skeletal muscle recovery in rats following exercise.** *J. Nutr.* 12:1102-1106, 1999.

ANTHONY J.C.; ANTHONY T.G. KIMBALL S.R. & JEFFERSON L.S. **Signalling pathways involved in translational control of protein synthesis in skeletal muscle by leucine.** *J. Nutr.* 131: 856-860S, 2001.

ANTHONY J.C.; LANG C.H.; CROZIER S.J.; ANTHONY T.G.; MACLEAN D. A.; KIMBALL S. R.; JEFFERSON L. S. **Contribution of insulin to the translational control of protein synthesis in skeletal muscle by leucine.** *Am. J. Physiol.* 282: 1092-1101 E, 2002.

AOYAMA Y.; TSUDA T.; HITOMI-OHMURA E.; YOSHIDA A. **Activities of some regulatory enzymes of carbohydrate metabolism in the liver of rats fed a histidine exceeds diet.** *Comp. Biochem. Physiol.* 104 A : 381-388,1993.

ARGILÉS J.M. **Cancer-associated malnutrition.** *Euro. J. Oncol. Nurs.* 9: 539-550, 2005.

ASHA D.S.; PRATHIMA S.; SUBRAMANYAN M.V. **Dietary vitamin E and physical exercise: II. Antioxidant status and lipofuscin-like substances in aging rat heart.** *Exp Gerontol.* 38(3):291-297, 2003.

ASTRAND P.O.; RODAHL K. **Physiological bases of exercise.** Textbook of work physiology. New York: McGraw-Hill Inc . 1986.

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

BARACOS V. E. **Regulation of skeletal-muscle-protein turnover in cancer-associated caquexia.** *J. Nutrition.* 16: 1015-1018, 2000.

BARREIRO E.; PUENTE B.; BUSQUETS S.; LÓPEZ-SORIANO F. J.; GEA J.; ARGILÉS J. M. **Both oxidative and nitrosative stress are associated with muscle wasting in tumor-bearing rats.** *FEBS Letters.* 579: 1646-1652, 2005.

BEACH E.F.; TURNER J.J. **An enzymatic method for glucose determination in body fluids.** *Clin Chem.* 4(6): 462-475, 1958.

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

BIFFL W. L.; MOORE E. E.; HAENEL J. B. **Nutrition support of the trauma patient.** *Nutrition.* 18 (11-12): 960-965, 2002.

BROWN J. K.; BYERS .; DOYLE C.; CORNEYA K. S.; DEMARK-WAHNEFRIEND W.; KUSHI L. H.; MCTIERNAN A.; ROCK C. L.; AZIZ N.;BLOCH A. S.; ELDRIDGE B.; HAMILTON K.; KATZIN C.; MARIN J.; KOONCE A.; MOBLEY C.; MORRA M. E.; PIERCE M. S.; SAWYER A. **Nutrition and physical activity during and after cancer treatment: an American Cancer Society guide for informed choices.** *Cancer J. Clin.* 53 : 268-291, 2003.

CALHAU C, HIPOLITO-REIS C, AZEVEDO I. **Alkaline phosphatase and exchange surfaces.** *Clin Biochem.* 32(2):153-4, 1999.

CILIBERTO H; CILIBERTO M; BRIEND A; ASHORN P; BIER D; MANARY M. **Antioxidant supplementation for the prevention of kwashiorkor in Malawian children: randomised; double blind; placebo controlled trial.** *BMJ.* 330(7500):1109, 2005

COHN S.H.; ELLIS K.J.; VARTSKY D.; SAWITSKY A.; GARTENHAUS W.; YASUMURA S.; VASWANI A.N. **Comparison of methods of estimating body fat in normal subjects and cancer patients.** *Am J Clin Nutr.* 34(12):2839-2847, 1981.

COHN S.H.; VARTSKY D.; VASWANI A.N.; SAWITSKY A.; RAI K.; GARTENHAUS W.; YASUMURA S.; ELLIS K.J.; **Changes in body composition of cancer patients following combined nutritional support.** *Nutr. Cancer.* 4(2):107-119, 1982.

CORI C.F. & CORI G.T. **The carbohydrate metabolism of tumors.** *J. Biol. Chem.* 64: 11-22, 1925.

COSTA ROSA L.F. **Exercise as a time-conditioning effector in chronic disease: a complementary treatment strategy.** *Evid. Based Complement Alternat Med.* 1(1):63-70, 2004.

COSTELLI P; TESSITORE L.; BATETTA B.; MULAS M.F.; SPANO O.; PANI P.; BACCINO F.F.; DESSÌ S. **Alterations of Lipid and Cholesterol Metabolism in Cachectic Tumor-Bearing Rats Are Prevented by Insulin.** *J. of Nutr.* 129:700-706, 1999.

CREVENNA R.; SCHMIDINGER M.; KEILANI M.; NUR H.; ZOCH C.; ZIELINSKI C.; FIAKAMOSER V.; QUITTAN M. **Aerobic exercise as additive palliative treatment for a patient with advanced hepatocellular cancer.** *Wien. Med. Wochenschr.* 153(9-10):237-40, 2003.

CROZIER S.J.; KIMBALL S.R.; EMMERTS.W.; ANTHONY J.C.; JEFFERSON L.S. **Oral leucine administration stimulates protein synthesis in rat skeletal muscle.** *J Nutr.* 135(3): 376-382, 2005.

DANERYD P.; ABERG F.; DALLNER G.; ERNSTER L.; SCHERSTEN T.; SOUSSI B. **Coenzymes Q9 and Q10 in skeletal and cardiac muscle in tumour-bearing exercising rats.** *Eur. J. Cancer.* 31A (5):760-65, 1995.

DANERYD P.L.; HAFSTROM L.R.; KARLBERG I.H. **Effects of spontaneous physical exercise on experimental cancer anorexia and cachexia.** *Eur. J. Cancer.* 26(10):1083-1088, 1990.

DANERYD P.; WESTIN T.; EDSTRÖM S.; SOUSSI B. **Tumour purine nucleotides and cell proliferation in response to exercise in rats.** *Eur. J. of Canc.* 31A (13/14): 2309-2312, 1995.

DERMARK-WAHNEFRIED W.; PETERSON B. L.; WINER E. P. et al. **Changes in weight; body composition; and factors influencing energy balance among premenopausal breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy.** *J. Clin. Oncol.* 19(9): 2381-2389, 2001.

DEVECI D, MARSHALL JM, EGGINTON S. **CHRONIC. Hypoxia induces prolonged angiogenesis in skeletal muscles of rat.** *Exp Physiol.* 87(3):287-91, 2002.

DIMEO F.; RUMBERGER B.G.; KEUL J. **Aerobic exercise as therapy for cancer fatigue.** *Med. Sci. Sport. exerc.* 30(4): 475-478, 1998.

DIMEO F.; SCHWARTZ S.; FIETZ T.; WANJURA T.; BONNING D; THIEL E. **Effects of endurance training on the physical formance of patients with**

hematological malignancies during chemotherapy. *Support Care Cancer* 11(10): 623-628, 2003.

DOUMAS B.T.; Watson W.A.; BIGGS H.G. **Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromcresol green.** *Clin. Chim. Acta* 31(1):87, 1971.

DROTT C; PERSSONH.;LUNDHOLM K. **Cardiovascular and metabolic response to adrenaline-infusion in weight-losing patients with and without cancer.** *Clin. Physiol.* 9:427,1989.

DUNCAN K.; HARRIS S.; ARDIES C.M. **Running exercise may reduce risk for lung and liver cancer by inducing activity of antioxidant and phase II enzymes.** *Canc. Letters.* 116: 151-158, 1997.

FALCONER J.S.; FEARON K.C.H.; PLESTER C.E. **Cytokines the acute phase response and energy expenditure in cachectic patients with pancreatic cancer.** *Ann. Surg.* 219: 325-330, 1994.

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

FLAKOLL P.J.; JUDY T.; FLINN K.; CARR C.; FLINN S. **Postexercise protein supplementation improves health and muscle soreness during basic military training in marine recruits.** *J. Appl. Physiol.* 96: 951-956, 2004

FEDELE M.J.; THOMAS C.V. & FARRELLI P.A. **Selected contribution: IGF-I antibody prevents increases in protein synthesis in epitrochlearis muscles from reefered, diabetic rats.** *J. Appl. Physiol.* 90: 1166-1173, 2001.

FERNANDES L.C.; CURI R. **Reversion of Walker 256 tumor cachexia by insulin treatment: possible mechanisms involved and perspectives for future research.** *Endocr. Relat. Cancer* 4: 1-10, 1997.

FOULADIUN M.; KORNER U.; BOSAEUS I.; DANERYD P.; HYLINDER A.; LUNDHOLM K.G. **Body composition and time course changes in regional distribution of fat and lean tissue in unselected cancer patients on palliative care-correlations with food intake; metabolism; exercise capacity; and hormones.** *Cancer.* 103 (10): 2189-2198, 2005.

GAD, S.C. & WEIL, C.S. **Statistic for toxicologists.** In: Wallace H (editor), *Principles and Methods of toxicology.* Raven Press Ltda., New York, 221-274, 1994.

GARLICK P.J. **The role of leucine in the regulation of protein metabolism.** *J. Nutr.* 135(6): 15535-15565, 2005.

GLASHEEN J.J.; SORENSEN M.D. **Burkitt's lymphoma presenting with lactic acidosis and hypoglycemia- a case presentation.** *Leukemia & Lymphoma*. 46 (2): 281-283, 2005.

GLASPY J. **Anemia and fatigue in câncer patiens.** *Câncer*. 92 (6): 1719-1724, 2001.

GOBATTO C. A.; MELLO M. A.; SOUZA C. T.; RIBEIRO I. A. **The monosodium glutamate (MSG) obese rat as a model for the study of exercise in obesity.** *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*. 111(1-4):89-101, 2002

GOMES-MARCONDES MC; CURY L; CURI R. **Consequences of Walker 256 tumor grown for the placental/fetal development in rats.** *Cancer Res. Ther. Cont*. 5: 277-283, 1998.

GOMES-MARCONDES M.C.C.; TISDALE M.J. **Induction of protein catabolism and the ubiquitin-proteasome pathway by mild oxidative stress.** *Cancer Lett*. 180 (1): 69-74, 2002.

GOMES-MARCONDES M.C.C.; VENTRUCCI G.; TOLEDO M.T.; CURY L. COOPER J.C. **A leucine-supplemented diet improved protein content of skeletal muscle in young tumor-bearing rats.** *Braz. J. Biol. Res*. 36(11): 2003.

GORDON T.; CASTELLI W. P.; HJORTLAND M.C.; KANNEL W. B.; DAWBER T.R. **High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study.** *Am. J. Med*. 62(5):707-714, 1977.

HABIG W. H.; PABST J. M.; JAKOBY W. B. **Glutathione S-transferase.** *J. Biol. Chem*. 249:7130-7132, 1974.

HOLECEK M. D. **Relation between glutamine; branched-chain amino acids; and protein metabolism.** *J. Nutr*. 18:130-133, 2002.

HOLM E.; HAGMULLER E.; STAEDT U.; et al. **Substrate balances across colonic carcinomas in humans.** *Cancer Res*. 5:1373, 1995.

INCA (Instituto Nacional do Câncer)
http://www.inca.gov.br/conteudo_view_registrosdecancerdebasepopulacional.

INUI A. **Cancer anorexia-caquexia syndrome.** *Cancer Res*. 59: 4493-4501; 1999.

INUI A. **Recent development in research and management of cancer anorexia-cachexia syndrome.** *Gan To Kagaku Ryoho*. 32(6):743-749, 2005.

JACKSON M. J.; KHASSAF M.; VASILAKI A.; MCCADLE F.; MACCARDLE A. **Vitamin E and the oxidative stress of exercise.** *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1031: 158-168, 2004.

JACOBS N.J.; VAN DENMARK P.J. The purification and properties of the alpha-glycerophosphate-oxidizing enzyme of *Streptococcus faecalis* 10C1. *Arch. Biochem. Biophys.* 88: 250-255, 1960.

JOHNSON L.B.; JORGENSEN L.N.; ADAWI D.; BLOMQVIST P.; JEPPSSON B. **The effect of preoperative radiotherapy on systemic collagen deposition and postoperative infective complications in rectal cancer patients.** *Dis. Colon. Rectum.* 48(8):1573-1579, 2005.

JONES W.L.; EVES N.D.; COURNEYA K. S.; CHIU B.K.; BARACOS V.E.; HANSON J.; JOHNSON L.; MACKEY J.R. **Effects of exercise training on antitumor efficacy of doxorubicin in MDA-MB-231 breast cancer xenografts.** *Clin. Canc. Res.* 11(18):6695-6698, 2005.

KAPLAN A.; GAU N.; STEIN E.A. **Collection and storage of serum lactic acid samples at room temperature without deproteinization.** *Clin Chem.* 26(1):175-176, 1980.

KIMBALL S. R.; FARRELL; P. A.; JEFFERSON; L. S. **Exercise effects on muscle insulin signaling and action. Invited review: Role of insulin in translation control of protein synthesis in skeletal muscle by amino acids or exercise.** *J. Appl. Physiol.* 93:1168-1180, 2002.

KIRAN T.R.; SUBRAMANYAM M.V.V.; DEVI S.A. **Swim exercise training and adaptations in the antioxidant defense system of myocardium of old rats: relationship to swim intensity and duration.** *Comp. Biochem. Physiol. Part.* 137:187-196, 2004.

KNOLS R.; AARONSON N.K.; UEBELHARI D.; FRANSEN J.; AUFDENIKANPE G. **Physical exercise in cancer patients during and after medical treatment: A systematic review of randomized and controlled clinical trials.** *J. Clin. Oncol.* 23(16): 3830-3841, 2005.

KODISCHEK L.K. ;UMBREIT W.W. **Alpha-glycerophosphate oxidase in streptococcus faecium F24.** *J. Bacteriol* 98(3): 1063-1068, 1969.

LAMPRECHT M.; GREILBERGER J.; OETTL K. **Analytical aspects of oxidatively modified substances in sports and exercises.** *Nutrition.* 20:728-730, 2004.

LANG J. K.; GOHIL K.; PACKER L.; BURK R. F. **Selenium deficiency; endurance exercise capacity; and antioxidant status in rats.** *J. Appl. Physiol.* 83: 2532-2535, 1987.

LANGSTEIN; N. H.; NORTON; J. A. **Mechanisms of cancer cachexia.** *Hem. Oncol. Clin.* 5 :103-123, 1991.

LORITE, M.J.; THOMPSON, M.G.; DRAKE, J.L.; CARLING, G.; TISDALE, M.J. **Mechanism of muscle protein degradation induced by a cancer cachectic factor.** *Br J Cancer* 78(7): 850-856, 1998.

LOWRY, O.H. et al. **Protein measurement with the folin phenol reagent.** *J Biol. Chem.* 193: 265-75, 1951.

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

LUNDHOLM K.; BYLUND A.C.; HOLM J.; et al. **Skeletal muscle metabolism in patients with malignant tumour.** *Eur. J. Cancer.* 12: 465, 1976.

MACKENZIE M.L.; BEDARD N.; WING S.S.; BARACOS V.E. **A pro-inflammatory tumor that activates protein degradation sensitizes rats to catabolic effects of endotoxin.** *Am. J. Physiol. End. Metab.* 289(4): 527-533 E, 2005.

MARIOTTI F.; SIMBELIE R. L.; MAKARIOS-LAHHAM L.; HUNEAU J. F.; LAPLAIZE B.; TOMÉ D.; EVEN P. **Acute ingestion of dietary proteins improves post-exercise liver glutathione in rats in a dose-dependent relationship with their cysteine content.** *J. Nutr.* 134(1): 128-131, 2004.

MARTIN W.H.; KLEIN S. **Use of endogenous carbohydrate and fat as fuels during exercise.** *Proc. Nutr. Soc.* 54: 49-54, 1998.

MARTINS, M.J.; NEGRAO, M.R. & HIPOLITO-REIS, C. **Alkaline phosphatase from rat liver and kidney is differentially modulated.** *Clin Biochem.* 34(6): 463-468, 2001.

MATHEWS D.E. **Observations of branched-chain amino acid administration in humans.** *J. Nutr.* 135(6):15805-1545, 2005.

MAY P.E.; BARBER A.; OLIMPIO J.T.D.; HOURIHANE A.; ABUMRAD N.N. **Reversal of cancer-related wasting using oral supplementation with a combination of β -hydroxy- β -methylbutyrate; arginine; and glutamine.** *Am. J. Surg.* 183:471-479, 2002.

MCCORD J.M.. **Human disease; free radicals; and the oxidant/antioxidant balance.** *Clin. Biochem.* 26(5):351-357, 1993.

MEYENFELDT M.V.. **Cancer-associated malnutrition: An introduction.** *Euro. J. Oncol. Nurs.* 9: 535-538, 2005.

MOLINA P.; BURZTEIN S.; ABUMRAD N. N. **Teorias e suposições sobre gasto energético.** In: LANG C. H.; ABUMRAD N. N.; eds. *Clínicas de terapia intensiva-nutrição no paciente criticamente enfermo.* Interlivros. Rio de Janeiro. 583-597, 1995.

MULLIGAN K. & BLOCH. **Energy expenditure and protein metabolism in humanan imune deficiency virus infection and cancer caquexia.** *Sem. Oncol.* 25, 1998.

OHYAMA M, SUZUKI N, YAMAGUCHI Y, MAENO M, OTSUKA K, ITO K. **Effect of enamel matrix derivative on the differentiation of C2C12 cells.** *J Periodontol.* 73(5):543-50, 2002.

O'KEEFE S.J.D.; OGDEN J.; RAMJEE G.; RUND J. **Contribution of elevated protein turnover and anorexia to cachexia in patients with hepatocellular carcinoma.** *Cancer Res.* 50:1226-1230, 1990.

PANGBOURN J. B. **Nutritional and anti-inflammatory aspects of amino acids.** In: Bland J. S.; ed. *Yearbook of Nutritional Medicine.* Connecticut: Keats Publishing Inc. 153-178, 1985.

PEAKE J.; SUZUKI K. **Neutrophil activation; antioxidant supplement and exercise-induced oxidative stress.** *Exerc. Immunol. Rev.* 10:129-141, 2004.

PEDERSEN B.K.; OSTROWSKI K.; ROHDE T., BRUUNSGAARD H. **Nutrition, exercise and the immune system.** *Proc. Nutr. Soc.* 57: 43-47, 1998.

PITKANEN H. T.; OJA S. S.; RUSKO H.; NUMMELA A.; KOMI P. V.; SARANSARI P.; TAKALA T.; MERO A. A. **Leucine supplementation des not enhance acute strength or running performance but affects serum amino acid concentration.** *Amino Acids.* 25: 85-95, 2003.

POSTMA T, STROES JA. **Lipid screening in clinical chemistry.** *Clin Chim Acta.* 22(4): 569-578, 1968.

REEVES P.G., NIELSEN F.H., FAHEY J. **AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76 rodent diet.** *J. Nutr.* 123: 1939-1951, 1993

RIBEIRO B. L.; MELLO M. A.; GOBATTO C. A. **Continuous and intermittent exercise: effects of training and detraining on body fat in obese rats.** *Arch Latinoam Nutr.* 54(1):58-65, 2004.

ROBERTS C.K.; BARANARD R.J. **Effects of exercise and diet on chronic disease.** *J. Appl. Physiol.* 98:3-30, 2005.

SAKAGAMI H.; SATOH M.; YOKOTE Y.; TAKANO H.; TAKAHAMA M.; KOCHI M.; AKAHANE K. **Amino acid utilization during cell grown and apoptosis induction.** *Anticancer Res.* 18(6A): 4303-4306, 1998.

SCHWARTZ A.L. **Exercise and weight gain in breast cancer patients receiving chemotherapy.** *Cancer Pract.* 8(5):231-237,2000.

SEGAL R.; EVANS W.; JOHNSON D.; SMITH J.; COLLETTA S.; GAYTON J.; WOODARD S.; WELLS G.; REID R. **Structured exercise improves physical functioning in women with stages I and II breast cancer: results of a randomized controlled trial.** *J. Clin. Oncol.* 19(3): 657-665, 2001.

SEGAR M.L.; KATCH.; ROTH R.S.; GARCIA A.W.; PORTNER T.I.; GLICKMAN S.G.; HASLANGER S.; WILKINS E.G. **The effects of aerobic exercise on self-esteem and depressive and anxiety symptoms among breast cancer survivors.** *Oncol.Nurs. Forum.* 25(1):107-113, 1998.

SHEWCHUK L. D.; BARACOS V. E. AND FIELD C. J. **Dietary L-glutamine supplementation reduces the grown of the Morris hepatoma 7777 in exercise-trained and sedentary rats.** *Am. Soc. Nutr. Scic.* 158-166, 1997.

SHIMOMURA Y.; MURAKAMI T.; NAKAI N.; NAGASAKI M.; HARRIS R.A. **Exercise promotes BCAA catabolism: effects of BCAA supplementation on skeletal muscle during exercise.** *Am. Soc. Nutr. Scic.*1583-1586S, 2004.

SIES H. **Oxidative stress.** Introductory remarks. In: Sies H.; ed. *Oxidative stress.* London: Academic Press. 1-8, 1985.

SPENCER H.C.; MAUGULIS S.; WILDER V.W. **Amicromethod for the determination of gelatin and a study of the collagen content of muscles from normal and dystrophic rabbits.** *J. Biol. Chem.* 120: 256-266, 1937.

THORSEN L.; NYSTAD W.; DAHL O.; KLEPP O.; BREMNES R.M.; WIST E.; FOSSA S.D. **The level of physical activity in long-term survivors of testicular cancer.** *Eur. J. of Cancer.* 39:1216-1221, 2003.

TIPTON K.D.; BORSHEIM E.; WOLF S.E.; SANFORD A.P.; WOLFE R.R. **Acute response of net muscle protein balance reflects 24-h balance after exercise and amino acid ingestion.** *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 284: 76-89 E, 2003.

TISTALE J. M. **Cancer caquexia: Metabilic alterations and clinical manifestations.** *J. of Nutrition.* 13:1-7, 1997.

TISTALE J. M. **Wasting in cancer.** *J. Nutr.* 1291: 2435-2465, 1999.

TISTALE J. M. **Metabolic abnormalities in caquexia and anorexia.** *J. Nutrition;* 16: 1013-1014; 2000

TISTALE J. M. **Tumor-host interactions.** *J. Cell. Biochem.* 93: 871-877, 2004.

TISTALE J. M. **Molecular pathways leading to cancer.** *Physiol.* 20: 340-348, 2005

TOGNI V; OTA C.C.; FOLADOR A; JUNIOR O.T.; AIKAWA J; YAMAZAKI R.K.; FREITAS F.A.; LONGO R; MARTINS E.F.; CALDER P.C.; CURI R.; FERNANDES L.C. **Cancer cachexia and tumor growth reduction in Walker 256 tumor-bearing rats supplemented with N-3 polyunsaturated fatty acids for one generation.** *Nutr .Cancer.* 46(1): 52-58, 2003.

UCHIYAMA, M. & MIHARA, M. **Determination of malonaldehyde precursor in tissue by thibarbituric acid test.** *Anal Biochem.*, 86: 271-278, 1978.

VALE C.; STEWART L.; TIERNEY J.; UK COORDINATING COMMITTEE FOR CANCER RESEARCH NATIONAL REGISTER OF CANCER. **Trends in UK cancer trials: results from the UK Coordinating Committee for Cancer Research National Register of Cancer Trials.** *Br. J. Cancer.* 92(5):811-4, 2005.

VARY T.C.; DARDEVET D.; GRIZARD J.; VOISIN L.; BUFFIERE C.; DENIS P.; BREUILLE D.; & OBLED C. **Differential regulation of skeletal muscle protein synthesis turnover by insulin and IGF-I after bacteremia.** *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metabol.* 275. 584- 593E, 1998.

VENTRUCCI G.; MELLO M.A.R.; GOMES-MARCONDES M.C.C. **Effect of a leucine-supplemented diet on body composition changes in pregnant rats bearing Walker 256 tumor.** *Braz. J. Biol. Res.* 34:333-338, 2001.

VENTRUCCI G.; MELLO M.A.R.; GOMES-MARCONDES M.C.C. **Effects of leucine supplemented diet on intestinal absorption in tumor bearing pregnant rats.** *BMC Cancer.* 2:7, 2002.

VENTRUCCI G.; MELLO M.A.R.; GOMES-MARCONDES M.C.C. **Proteassome activity is altered in skeletal muscle tissue of tumour-bearing rats fed a leucine-rich diet .***ERC.* 11:887-895, 2004

WAALKES, T.P.; UDENFRIEND, S. A. **fluorometric method for the estimation of tyrosine in plasma and tissues.** *J Lab Clin Med.*, 50(5): 733-736, 1957.

WAITZBERG D. L. **Dieta, nutrição e câncer.** *Editora Ateneu.* 2004.

WALTERHOUSE C. & NYE W.H.R. **Metabolic effects of infused triglycerids.** *Metabolism.* 10:403-407, 1961.

WOLFE R.R. **Protein supplements and exercise.** *Am. J. Nutr.* 72: 551-557S, 2000.

YOSHIDA S. MD.; Kaibara A. MD.; Ishibashi N. MD. And Shirouzu K. MD. **Glutamine supplementation in cancer patients.** *J. Nutr.* 17: 766-768, 2001.

APÊNDICE

TABELA I: Ganho de peso corpóreo por dia (g) de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não.

Grupos	Dias de experimento				
	4	6	8	12	14
C	3,9 ± 0,3	5,3 ± 0,2	5,4 ± 0,4	5,3 ± 0,4	5,4 ± 0,4
CE	4,2 ± 0,3	4,8 ± 0,4	5,5 ± 0,5	5,0 ± 0,4	3,5 ± 0,3
W	4,4 ± 0,4	5,9 ± 0,5	5,0 ± 0,4	5,1 ± 0,4	0,9 ± 0,9
WE	6,2 ± 0,5	4,5 ± 0,5	4,1 ± 0,8	3,2 ± 0,7	1,1 ± 1,7
LE	5,3 ± 0,3	7,5 ± 0,4	5,2 ± 0,5	7,4 ± 0,2	3,0 ± 0,3
WLE	3,4 ± 0,2	3,0 ± 0,3	3,1 ± 0,2	3,7 ± 0,3	3,0 ± 0,7
GE	4,9 ± 0,3	6,6 ± 0,6	5,8 ± 0,4	6,9 ± 0,5	3,4 ± 0,4
WGE	3,3 ± 0,2	3,2 ± 0,4	3,7 ± 0,6	2,0 ± 0,9	2,2 ± 0,9
LGE	5,0 ± 0,4	7,1 ± 0,2	5,5 ± 0,3	6,7 ± 0,3	3,7 ± 0,5
WLGE	3,2 ± 0,4	4,2 ± 0,3	3,3 ± 0,5	4,9 ± 0,5	2,8 ± 0,7

Legenda: controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos com média ± SEM erro padrão da média, utilizando-se análise multivariada ANOVA, seguido de teste de comparação entre os grupos Bonferroni para cada coluna.

TABELA II: Evolução do ganho de peso corpóreo (%) de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não

Grupos	Dias de experimento				
	4	6	8	12	14
C	110,8 $\pm$ 1,0	117,6 $\pm$ 1,4	127,9 $\pm$ 1,5	142,2 $\pm$ 2,3	149 $\pm$ 3,4
CE	113,3 $\pm$ 2,7	119,6 $\pm$ 3,2	127 $\pm$ 3,7	132,8 $\pm$ 5,3	141,8 $\pm$ 5,9
W	112,2 $\pm$ 1,5	120,4 $\pm$ 2,1	129,6 $\pm$ 2,7	139,4 $\pm$ 3,9	127,3 $\pm$ 4,6
WE	114,6 $\pm$ 1,2	120,4 $\pm$ 1,8	126,7 $\pm$ 2,4	130,1 $\pm$ 3,8	115,3 $\pm$ 4,0
LE	115,1 $\pm$ 1,1	125,6 $\pm$ 1,4	136,4 $\pm$ 1,6	152,1 $\pm$ 2,2	155,6 $\pm$ 3,0
WLE	107,5 $\pm$ 0,6	111,5 $\pm$ 0,9	118,3 $\pm$ 1,7	124,5 $\pm$ 2,1	114,8 $\pm$ 3,3
GE	112,7 $\pm$ 2,0	120,7 $\pm$ 3,2	133,6 $\pm$ 3,2	148,9 $\pm$ 3,5	154,6 $\pm$ 4,1
WGE	108,6 $\pm$ 1,1	113,5 $\pm$ 1,6	121,9 $\pm$ 2,6	124,3 $\pm$ 2,6	116,3 $\pm$ 2,9
LGE	113,5 $\pm$ 1,5	123,8 $\pm$ 1,6	135,5 $\pm$ 1,9	149,9 $\pm$ 2,3	158 $\pm$ 3,3
WLGE	107,9 $\pm$ 1,2	112 $\pm$ 1,6	118 $\pm$ 1,9	126,7 $\pm$ 2,9	115,8 $\pm$ 3,8

Legenda: controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos com média $\pm$ SEM erro padrão da média, utilizando-se análise multivariada ANOVA, seguido de teste de comparação entre os grupos Bonferroni para cada coluna.

TABELA III: Evolução do peso corpóreo (g) de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não

Grupos	Dias de experimento					
	0	4	6	8	12	14
C	143,5 ± 4,4	158,9 ± 4,8	168,4 ± 4,9	183,4 ± 5,8	204,1 ± 6,7	213,5 ± 7,5
CE	136,6 ± 3,8	154,5 ± 5,2	163,1 ± 5,9	173,5 ± 7,0	188,3 ± 8,2	193,5 ± 9,3
W	148,9 ± 5,4	166,5 ± 5,5	178,4 ± 6,0	191,8 ± 6,0	208,5 ± 7,0	188,1 ± 8,0
WE	144,7 ± 5,7	166 ± 7,1	174,4 ± 7,8	183,9 ± 9,0	193,3 ± 9,4	166,9 ± 8,2
LE	144 ± 3,3	165,6 ± 2,7	180,7 ± 3,1	196,3 ± 3,8	218,8 ± 4,0	223,8 ± 4,3
WLE	156 ± 6,4	167 ± 6,3	172,6 ± 6,6	186,5 ± 6,9	198,5 ± 6,0	176,5 ± 6,3
GE	136,9 ± 2,6	154,3 ± 3,2	165 ± 3,9	182,6 ± 3,0	203,4 ± 2,7	211,1 ± 3,8
WGE	150,9 ± 5,7	163,3 ± 4,6	170,6 ± 4,9	183 ± 5,3	189,1 ± 6,1	174,7 ± 5,8
LGE	141,7 ± 6,3	160,6 ± 6,9	175 ± 6,6	191,5 ± 6,8	211,8 ± 7,2	222,9 ± 7,0
WLGE	150 ± 5,9	161,5 ± 6,1	167,4 ± 6,1	176,1 ± 5,8	190,7 ± 6,0	172,1 ± 6,4

Legenda: controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos com média ± SEM erro padrão da média, utilizando-se análise multivariada ANOVA, seguido de teste de comparação entre os grupos Bonferroni para cada coluna.

TABELA IV: Eficiência alimentar (g) de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não

Grupos	Dias de experimento				
	4	6	8	12	14
C	0,22 ± 0,01	0,31 ± 0,02	0,35 ± 0,02	0,33 ± 0,02	0,30 ± 0,02
CE	0,27 ± 0,02	0,31 ± 0,02	0,31 ± 0,02	0,33 ± 0,02	0,22 ± 0,01
W	0,24 ± 0,01	0,34 ± 0,02	0,35 ± 0,02	0,38 ± 0,01	-0,38 ± 0,31
WE	0,32 ± 0,02	0,26 ± 0,02	0,31 ± 0,05	0,27 ± 0,02	-0,17 ± 0,25
LE	0,27 ± 0,01	0,38 ± 0,02	0,26 ± 0,02	0,35 ± 0,01	0,15 ± 0,01
WLE	0,20 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,32 ± 0,03	0,27 ± 0,03	0,30 ± 0,07
GE	0,27 ± 0,01	0,32 ± 0,02	0,27 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,14 ± 0,02
WGE	0,20 ± 0,01	0,23 ± 0,02	0,31 ± 0,03	0,30 ± 0,02	0,18 ± 0,09
LGE	0,25 ± 0,02	0,38 ± 0,01	0,29 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,19 ± 0,02
WLGE	0,22 ± 0,02	0,24 ± 0,02	0,33 ± 0,03	0,35 ± 0,04	-0,19 ± 0,20

Legenda: controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos com média ± SEM erro padrão da média, utilizando-se análise multivariada ANOVA, seguido de teste de comparação entre os grupos Bonferroni para cada coluna.

TABELA V: Dosagens de estresse oxidativo do músculo gastrocnêmio de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não

Grupos	Peso do músculo (g)	Proteína muscular ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	MDA (nM.ug de proteína-1)	GST (nmol.min-1.ug protein-1)	Fosfatase [nM.min-1.mg proteína-1]
C	$1,1 \pm 0,05^a$	$2,1 \pm 0,1^a$	$0,5 \pm 0,07^a$	$4,5 \pm 0,9^a$	$31,8 \pm 4,3^a$
CE	$1,0 \pm 0,06^a$	$2,5 \pm 0,1^a$	$0,4 \pm 0,06^a$	$5,0 \pm 0,6^a$	$33,3 \pm 4,8^a$
W	$0,8 \pm 0,06^b$	$1,5 \pm 0,1^b$	$2,4 \pm 0,5^b$	$2,1 \pm 0,43^b$	$13,8 \pm 2,4^b$
WE	$0,7 \pm 0,09^b$	$1,6 \pm 0,1^b$	$1,3 \pm 0,3^{a,b}$	$1,5 \pm 0,7^b$	$13,1 \pm 5,2^b$
LE	$1,2 \pm 0,03^a$	$2,3 \pm 0,1^a$	$1,5 \pm 0,3^{a,b}$	$5,3 \pm 0,5^a$	$13,3 \pm 2,8^b$
WLE	$0,87 \pm 0,14^{a,b}$	$1,1 \pm 0,1^b$	$1,1 \pm 0,1^{a,b}$	$1,2 \pm 0,6^{b,c}$	$8,6 \pm 2,8^b$
GE	$1,2 \pm 0,03^a$	$1,5 \pm 0,1^b$	$1,2 \pm 0,3^{a,b}$	$4,0 \pm 0,4^a$	$9,8 \pm 2,8^b$
WGE	$0,8 \pm 0,08^b$	$1,2 \pm 0,06^b$	$1,5 \pm 0,4^{a,b}$	$0,2 \pm 0,08^c$	$5,8 \pm 2,4^b$
LGE	$1,4 \pm 0,05^a$	$3,0 \pm 0,2^c$	$1,3 \pm 0,2^{a,b}$	$5,5 \pm 0,3^a$	$10,3 \pm 1,8^b$
WLGE	$0,7 \pm 0,03^b$	$1,5 \pm 0,09^b$	$1,2 \pm 0,2^{a,b}$	$2,0 \pm 0,5^b$	$11,4 \pm 3,7^b$

Legenda: controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos com média $\pm$ SEM erro padrão da média, utilizando-se análise multivariada ANOVA, seguido de teste de comparação entre os grupos Bonferroni para cada coluna. Diferentes letras sobrescritas significam diferença significativa para $p < 0,05$.

TABELA VI: Dosagens de estresse oxidativo do coração de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não

Grupos	Peso relativo do coração (%)	Proteína cardíaca ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	MDA (nM. μg de proteína-1)	GST (nmol.min-1. μg protein-1)	Fosfatase [nM.min-1.mg proteína-1]
C	$0,37 \pm 0,009^a$	$3,0 \pm 0,08$	$0,14 \pm 0,02^a$	$10,86 \pm 0,63^a$	$139,2 \pm 6,9^a$
CE	$0,45 \pm 0,01^b$	$2,7 \pm 0,13$	$0,24 \pm 0,02^b$	$8,82 \pm 0,55^a$	$99,9 \pm 10,5^a$
W	$0,42 \pm 0,01^a$	$3,1 \pm 0,19$	$0,26 \pm 0,03^b$	$10,46 \pm 0,90^a$	$134,9 \pm 9,2^a$
WE	$0,48 \pm 0,03^b$	$2,9 \pm 0,21$	$0,31 \pm 0,08^b$	$8,55 \pm 0,86^{a,c}$	$139,1 \pm 16,2^a$
LE	$0,41 \pm 0,006^a$	$3,3 \pm 0,11$	$0,08 \pm 0,02^a$	$12,62 \pm 0,49^b$	$192,5 \pm 11,8^b$
WLE	$0,47 \pm 0,01^b$	$2,4 \pm 0,22^*$	$0,30 \pm 0,06^b$	$7,80 \pm 0,77^{a,c}$	$109,3 \pm 11,1^a$
GE	$0,41 \pm 0,01^a$	$3,4 \pm 0,16$	$0,11 \pm 0,03^a$	$14,64 \pm 1,33^b$	$205,5 \pm 21,2^b$
WGE	$0,46 \pm 0,01^b$	$2,9 \pm 0,17$	$0,35 \pm 0,05^b$	$9,29 \pm 0,79^{a,c}$	$133,2 \pm 10,8^a$
LGE	$0,41 \pm 0,004^a$	$3,1 \pm 0,17$	$0,10 \pm 0,01^a$	$11,59 \pm 1,10^{a,b}$	$172,0 \pm 15,2^b$
WLGE	$0,43 \pm 0,01^b$	$2,4 \pm 0,27$	$0,26 \pm 0,04^b$	$6,73 \pm 0,93^c$	$86,1 \pm 16,1^a$

Legenda: controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos com média $\pm$ SEM erro padrão da média, utilizando-se análise multivariada ANOVA, seguido de teste de comparação entre os grupos Bonferroni para cada coluna. Diferentes letras sobrescritas significam diferença significativa para $p < 0,05$.

TABELA VII: Perfil sérico de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não

Grupos	Proteína sérica ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Albumina sérica ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Globulina sérica ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Glicose sérica (nmol/l)	Lactato sérico (mg/dl)
C	$4,7 \pm 0,3^a$	$3,9 \pm 0,1^a$	$1,5 \pm 0,1^a$	$8,7 \pm 0,4^a$	$15,4 \pm 0,6^a$
CE	$4,1 \pm 0,2^a$	$3,8 \pm 0,2^a$	$0,9 \pm 0,1^a$	$7,0 \pm 0,4^a$	$16,1 \pm 0,8^a$
W	$3,1 \pm 0,09^b$	$2,6 \pm 0,1^b$	$0,8 \pm 0,1^a$	$4,6 \pm 0,5^b$	$18,5 \pm 1,0^a$
WE	$3,5 \pm 0,1^b$	$3,0 \pm 0,1^b$	$0,8 \pm 0,1^a$	$4,4 \pm 0,4^b$	$15,6 \pm 0,9^a$
LE	$4,9 \pm 0,3^a$	$3,5 \pm 0,2^a$	$1,0 \pm 0,1^a$	$8,8 \pm 0,6^a$	$10,3 \pm 1,0^b$
WLE	$4,0 \pm 0,2^{a,b}$	$2,7 \pm 0,09^b$	$1,1 \pm 0,1^a$	$5,8 \pm 0,8^{a,b}$	$12,9 \pm 0,4^{a,b}$
GE	$4,3 \pm 0,2^a$	$3,4 \pm 0,2^a$	$0,7 \pm 0,2^a$	$8,7 \pm 0,5^a$	$12,2 \pm 0,9^{a,b}$
WGE	$3,7 \pm 0,1^b$	$2,6 \pm 0,08^b$	$0,8 \pm 0,1^a$	$4,8 \pm 0,8^b$	$17,5 \pm 0,8^a$
LGE	$4,3 \pm 0,1^a$	$3,5 \pm 0,1^a$	$1,0 \pm 0,1^a$	$8,6 \pm 0,3^a$	$13,1 \pm 0,8^{a,b}$
WLGE	$3,3 \pm 0,1^b$	$2,9 \pm 0,1^b$	$0,8 \pm 0,1^a$	$4,7 \pm 0,6^b$	$18,1 \pm 0,7^a$

Legenda: controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos com média $\pm$ SEM erro padrão da média, utilizando-se análise multivariada ANOVA, seguido de teste de comparação entre os grupos Bonferroni para cada coluna. Diferentes letras sobrescritas significam diferença significativa para $p < 0,05$.

TABELA VIII: Perfil sérico de ratos jovens portadores ou não de tumor de Walker submetidos ou não a diferentes esquemas nutricionais e exercitados ou não

Grupos	Lípedes totais (mg/dl)	Colesterol total (mg/dl)	HDL (mg/dl)	Triacilglicerídeos (mg/dl)
C	564,9 ± 12,6 ^a	75,0 ± 3,5 ^a	22,3 ± 1,1 ^a	151,3 ± 5,3 ^a
CE	533,7 ± 16,7 ^a	75,3 ± 3,3 ^a	24,9 ± 1,0 ^a	139,5 ± 2,9 ^a
W	566,9 ± 13,4 ^a	59,0 ± 1,4 ^b	18,2 ± 0,8 ^b	145,1 ± 5,3 ^a
WE	547,3 ± 7,2 ^a	57,9 ± 2,6 ^b	17,7 ± 0,9 ^b	143,5 ± 5,1 ^a
LE	683,0 ± 23,3 ^b	66,0 ± 3,3 ^a	22,1 ± 0,6 ^a	155,3 ± 8,0 ^a
WLE	605,0 ± 13,8 ^{a,b}	68,7 ± 3,0 ^a	16,8 ± 1,0 ^b	166,6 ± 8,6
GE	673,1 ± 31,7 ^b	68,0 ± 3,7 ^a	21,5 ± 0,8 ^a	149,5 ± 13,4 ^a
WGE	591,5 ± 15,9 ^{a,b}	68,8 ± 2,0 ^a	17,5 ± 0,8 ^b	142,8 ± 6,5 ^a
LGE	682,2 ± 12,6 ^b	71,6 ± 3,0 ^a	22,6 ± 0,9 ^a	147,4 ± 5,4 ^a
WLGE	591,2 ± 12,5 ^a	71,6 ± 3,1 ^a	18,0 ± 0,5 ^b	145,4 ± 7,3 ^a

Legenda: controle (C), controle exercitado (CE), portadores de tumor de Walker 256 (W), tumor exercitado (WE), suplementado com leucina exercitado (LE), tumor submetido à suplementação de leucina exercitado (WLE), suplementado com glutamina exercitado (GE), tumor submetido à suplementação de glutamina exercitado (WGE), suplementado com leucina/glutamina exercitado (LGE) e tumor submetido à suplementação de leucina/glutamina exercitado (WLGE). Resultados expressos com média ± SEM erro padrão da média, utilizando-se análise multivariada ANOVA, seguido de teste de comparação entre os grupos Bonferroni para cada coluna. Diferentes letras sobrescritas significam diferença significativa para $p < 0,05$.