

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE EDUCAÇÃO FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ASSOCIADO EM
EDUCAÇÃO FÍSICA – UEM/UEL

VERIDIANA MOTA MOREIRA

**TREINAMENTO DE INTENSIDADE MODERADA REALIZADO EM
DIFERENTES IDADES ATENUA O CRESCIMENTO TUMORAL EM
RATOS MEDIANTE SENSIBILIZAÇÃO À INSULINA**

Maringá
2017

VERIDIANA MOTA MOREIRA

TREINAMENTO DE INTENSIDADE MODERADA REALIZADO EM DIFERENTES IDADES ATENUA O CRESCIMENTO TUMORAL EM RATOS MEDIANTE SENSIBILIZAÇÃO À INSULINA

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação Associado em Educação Física – UEM/UEL, para obtenção do título de Doutor em Educação Física.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Rinaldi

Maringá
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

M838t Moreira, Veridiana Mota
Treinamento de intensidade moderada realizado em diferentes idades atenua o crescimento tumoral em ratos mediante sensibilização à insulina / Veridiana Mota Moreira. -- Maringá, 2017.
xiv, 83 f. : il. color., figs., tabs., quadros

Orientador: Prof. Dr. Wilson Rinaldi.
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Educação Física, Programa de Pós-Graduação Associado em Educação Física - UEM/UEL, 2017.

1. Treinamento aeróbio. 2. Tumor de Walker-256. 3. Caquexia. 4. Metástase. 5. Sensibilidade periférica à insulina. 6. Secreção de insulina. 7. Ilhotas pancreáticas. I. Rinaldi, Wilson, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências da Saúde. Departamento de Educação Física. Programa de Pós-Graduação Associado em Educação Física - UEM/UEL. III. Título.

CDD 21.ed. 612.044

VERIDIANA MOTA MOREIRA

**TREINAMENTO DE INTENSIDADE
MODERADA REALIZADO EM DIFERENTES
IDADES ATENUA O CRESCIMENTO
TUMORAL EM RATOS MEDIANTE
SENSIBILIZAÇÃO À INSULINA**

Tese apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Associado em Educação Física – UEM/UEL, na área de concentração Desempenho Humano e Atividade Física, para obtenção do título de Doutor(a).

APROVADA em 05 de junho de 2017.



Prof. Dra. **Elaine Cristina Vieira**



Prof. Dr. **Rodrigo Mello Gomes**



Prof. Dr. **Sidney Barnabé Peres**



Prof. Dr. **Arli Ramos de Oliveira**



Prof. Dr. **Wilson Rinaldi**
(Orientador)

Dedicatória



Dedico este trabalho ao meu filho Christian e ao meu marido Duda, ao Pai e a Mãe (in memoriam) e a Zizi e ao Dindo (in memoriam)

Agradecimentos

À minha família:

Duda, meu marido, meu grande companheiro e incentivador. Teu desprendimento no plano material em detrimento da minha formação continuada, colocando nossos ideais a frente de qualquer empecilho ao longo desse percurso, foi uma das provas de amor mais bonitas que pude contemplar em meus 44 anos de vida. Você viajou dois anos e meio milhares de quilômetros incansáveis por incontáveis vezes para cuidar de mim, do Chris e dos nossos 13 gatos, sem nunca se descuidar da função enquanto profissional. Esse momento existe porque você me deu essa oportunidade. Minha gratidão e meu amor sempre!

Christian, meu filho querido, meu amor maior. Você além de me encher de orgulho é a força propulsora que me trouxe até aqui. A Vó Gati está festejando esse momento, por que sabe que os esforços dela não foram em vão e que nossa família cumpre mais uma etapa projetada também por ela desde que me conheço por gente. Obrigado por acreditar que isso era possível, por ser meu companheiro e por administrar todos os momentos que a mãe precisou parcialmente se afastar da rotina de dona de casa, assumindo responsabilidades que foram essenciais para essa conquista, que como a mãe sempre te disse, é nossa!

Meus 13 gatos arteiros e companheiros, meu estimado gato que jovem nos deixou quando já estávamos aqui em Maringá. Talvez vocês não dimensionem, mas minha gratidão também a cada um. Aprendi a abrir mão de coisas que considerava prioritárias no dia-a-dia, a ser menos egoísta, mais solidária, mais humana, mais serena e mais determinada, porque vocês também eram prioridade em minha agenda. Isso mostra que é possível ser mãe, mulher, dona de casa, estudante, profissional e mãe de gatos. Feliz daqueles que se permitem adotar animais abandonados e compreender essa relação!

Dayse, Ata, Mano, Elena, Letícia, Fabrício, Francisco, Gilmar e demais familiares, meu carinho e gratidão!

Aos colegas, amigos, funcionários e professores:

Queridos parceiros de disciplinas e de laboratório (NEMO e LBCS), ainda presentes na UEM ou em outras Universidades. Obrigada por participarem com empenho em experimentos e procedimentos que tiveram grande relevância para o corpo de resultados deste estudo, mas sobretudo, por compartilharem comigo experiências de vida e conhecimentos que ampliaram minha concepção de ensino, de pesquisa e de ciência!

Queridos amigos Kelly Valério Prates, Flávio Andrade Francisco e Wanessa Gomes. Jamais esqueceremos o quanto foram atenciosos e desprendidos conosco e com nossos bichanos quando enfrentamos questões relacionadas à saúde a quase mil quilômetros de distância de Maringá. Sem palavras para agradecer cada minuto dedicado às nossas vidas, pessoal e profissional!

Estimadas Guisela Ratz Scoarize, secretária do PEF e Maroly Valentim Alves Pinto, técnica do LBCS, demais técnicas da Histologia e vigilantes do H67. Vocês são incansáveis, prestativos e fazem as coisas acontecerem! Muito obrigado por tudo!

Prof. Dr. Nelson Nardo Júnior, nossa gratidão em família pelo ingresso no PEF, pelos conhecimentos adquiridos e por todas as oportunidades vivenciadas no e pelo NEMO!

Prof. Dr. Giuliano Gomes Assis Pimentel, tua sensibilidade como educador e amigo, aliada à operacionalização de funções diretamente ligadas à solução de problemas inerentes ao andar da carruagem na pós-graduação, como coordenador desta, foram decisivas para a concretização do meu trabalho. Muito obrigado sempre!

Professoras Dr^a. Solange Marta Franzói de Moraes (PEF e PFS/UEM), Dr^a. Maria Ida Bonini Ravanelli Speziali (PFS/UEM) e Dr^a. Helenir Medri de Souza (PMPGCF/UDEL), meu carinho e gratidão pelos ensinamentos e pela acolhida em momentos difíceis. Que outras mulheres e mães se inspirem em vocês, de tal sorte que a perspicácia, a empatia e a capacidade de execução caminhem juntas no meio acadêmico. Vocês são a grande prova de que isso é possível!

Professores da banca de qualificação e defesa, Dr. Sidney Barnabé Peres e Dr. Arli Ramos de Oliveira (membros internos do PEF), Dr. Rodrigo Mello Gomes e Dr^a. Elaine Cristina Vieira (membros externos ao programa). Obrigada por contribuírem com valiosas sugestões e reflexões para melhoria do manuscrito final, da minha apresentação e das possibilidades futuras enquanto docente comprometida com uma boa ciência!

Prof. Dr. Wilson Rinaldi e Prof^a. Dr^a. Claudinéia Conationi da Silva Franco. Meu muito obrigada pelas orientações referentes à operacionalização desse projeto pioneiro em nossos departamentos na UEM. Vocês foram essenciais para a concretização dessa tese. Muito obrigado!

Prof. Dr. Paulo Cezar de Freitas Mathias. Serei eternamente grata pelos seus ensinamentos, pela sua dedicação excepcional e em especial, pela perspicácia em compreender minha realidade, meus anseios e assim concretizar comigo e com minha família a realização de um grande sonho. Além de todas as oportunidades que me foram dadas no LBCS enquanto doutoranda, agradeço também pelo privilégio de fazer parte de um processo acadêmico indissociado da reflexão política e do momento histórico que hoje vivemos em nosso país, conduzido brilhante e democraticamente pelo senhor.

Amigas de infância e juventude, amigos para “além da pós-graduação”, parceiros de luta, demais funcionários, técnicos e professores de longas datas que contribuíram para minha formação como um todo, médicos que cuidam de mim e da minha família e veterinários que cuidam dos nossos gatos, muito obrigada por todo o apoio, incentivo e zelo durante essa jornada!

MOREIRA, Veridiana Mota. **Treinamento de intensidade moderada realizado em diferentes idades atenua o crescimento tumoral em ratos mediante sensibilização à insulina.** 2017. 97f. Tese (Doutorado em Educação Física) – PEF-UEM/UEL. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2017.

RESUMO

A presente pesquisa teve como objetivo avaliar os efeitos protetores de um programa de treinamento físico moderado ou aeróbio realizado em diferentes fases do desenvolvimento sobre o crescimento do tumor de Walker-256, e se existe interferência da insulina sobre o crescimento tumoral no modelo animal proposto. Também pretendeu demonstrar alterações biométricas, fisiológicas e metabólicas que pudessem surgir em decorrência do protocolo de corrida em esteira utilizado e da inoculação tumoral subsequente. Para tanto, foram avaliados consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$), velocidade máxima de corrida, evolução ponderal, consumo alimentar, estoques de gordura, níveis plasmáticos de glicose, insulina, triacilgliceróis (TAGs), colesterol total e HDL. Além disso, foram realizados experimentos *in vivo* e *in vitro* para avaliar sensibilidade mecânica, tolerância à glicose e sensibilidade periférica à insulina e secreção de insulina por ilhotas pancreáticas isoladas estimuladas por diferentes concentrações de glicose. A morfologia do pâncreas e do tumor também foram estudadas. Os dados demonstraram que o desempenho físico foi melhor em ratos que iniciaram o treinamento físico na adolescência, avaliados pela velocidade máxima de corrida e pelo $VO_{2máx}$. O protocolo de treinamento moderado ou aeróbio diminuiu o índice de caquexia, proliferação celular e crescimento tumoral em ambas as idades, entretanto, foi mais acentuado em ratos treinados na adolescência. Níveis reduzidos de glicemia, insulinemia e melhora da sensibilidade periférica à insulina não foram revertidos nos ratos com tumor Walker-256 que começaram o treinamento na adolescência e parecem estar diretamente relacionados à redução do crescimento tumoral nesses animais. Além disso, o treinamento aeróbio precoce reduziu o conteúdo total de insulina bem como a secreção de insulina estimulada por glicose pelas ilhotas pancreáticas, sem prejudicar a morfologia das ilhotas. Ratos inoculados também apresentaram redução no número de ilhotas pancreáticas, porém, sem alteração na secreção de insulina. A redução da secreção de insulina pelas células beta pancreáticas em animais treinados parece ser o mecanismo responsável por esses resultados e por conferir ao exercício moderado uma nova terapia não farmacológica sensibilizante à insulina para prevenir o crescimento tumoral e doenças relacionadas.

Palavras-Chave: Treinamento aeróbio. Caquexia. Metástase. Sensibilidade à insulina. Secreção de insulina. Ilhotas pancreáticas.

MOREIRA, Veridiana Mota. **Moderate intensity training at different ages suppresses the tumor growth in rats through insulin sensitization.** 2017. 97f. Tese (Doutorado em Educação Física) – PEF-UEM/UEL. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2017.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the protective effects of a moderate or aerobic training program performed at different stages of development in Walker-256 tumor growth, and whether there is insulin interference on tumor growth in the proposed animal model. It also aimed to demonstrate biometric, physiological and metabolic changes that could be arisen as a result of the treadmill running protocol used and the subsequent tumor inoculation. The maximum oxygen consumption (VO_{2max}), maximum running speed, weight gain, food intake, fat stores, plasma glucose, insulin, triglycerides (TAGs), total and HDL cholesterol levels were evaluated. In addition, experiments *in vivo* and *in vitro* were performed to evaluate mechanical sensitivity, glucose tolerance and peripheral insulin sensitivity and insulin secretion by isolated pancreatic islets stimulated by different glucose concentrations. The morphology of the pancreas and tumor were also studied. The data demonstrated that the physical performance was better in rats that initiated the physical training in the adolescence, evaluated by the maximum running speed and the VO_{2max} . The moderate or aerobic training protocol decreased cachexia, cell proliferation, and tumor growth at both ages, however, it was more pronounced in rats who trained in adolescence. Reduced levels of glycaemia, insulinemia, and improvement of peripheral insulin sensitivity were not reversed in Walker-256 tumor bearing rats that began physical training in adolescence and appear to be directly related to reduced tumor growth in these animals. Furthermore, early aerobic training reduced total insulin content as well as glucose-stimulated insulin secretion by pancreatic islets, without impairing the islet morphology. Inoculated rats also presented reduction in the number of pancreatic islets, however, without alteration in insulin secretion. The reduction of insulin secretion by pancreatic beta cells in trained animals appears to be the mechanism responsible for these results and to give moderate exercise and insulin a novel non-pharmacological sensitizing therapy to prevent tumor growth and related diseases.

Keywords: Aerobic training. Cachexia. Metastasis. Insulin sensitivity. Insulin secretion. Pancreatic islets.

LISTA DE FIGURAS

Manuscrito 1:

Figure 1 - Schematic representation of the experimental protocol.....	22
Figure 2 - Body weight progression and relative food intake.....	27
Figure 3 - Final workload and VO _{2max} in the pretest and posttest.....	28
Figure 4 - Tumor weight.....	29
Figure 5 - Cellular proliferation (PCNA).....	30
Figure 6 - Percentage of cachexia.....	31
Figure 7 - Muscle weight.....	32
Figure 8 - Fat pad stores.....	34
Figure 9 - Lipid profile.....	35
Figure 10 - Plasma glucose, insulin and Homa-IR.....	37
Figure 11 - Glucose during the ipGTT.....	38
Figure 12 - Glucose during the ipITT.....	39

Manuscrito 2:

Figure 1 - Schematic overview of the protocols.....	51
Figure 2 - Tumor weight, cachexia and metastasis in inoculated rats.....	56
Figure 3 - Glucose-induced insulin release from pancreatic islets of isolated.....	58
Figure 4 - Total insulin content.....	59
Figure 5 - Endocrine pancreas morphology.....	60
Figure 6 - Mechanic sensibility.....	61

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Delineamento experimental.....	6
Quadro 2- Cronograma referente à adaptação dos animais a esteira.....	6
Quadro 3 - Etapas sequenciais do teste de esforço.....	7
Quadro 4 - Roteiro das sessões semanais de treinamento.....	8

LISTA DE TABELAS

Table 1-	$VO_{2\max}$ and MRS.....	56
Table 2-	Biometric and metabolic parameters and K_{it}	57

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AMPK	Adenosine monophosphate-activated protein kinase
AUC	Area under the curve
BL	Baseline
BWG	Body weight gain
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
CS	Controle sedentário
CT	Controle treinado
DOHaD	Developmental Origins of Health and Disease
ET	Effort test
FBW	Final body weight
FWL	Final workload
GLUT	Glucose transporter
GMGC	Ganho de massa corpórea do grupo controle
H_a	Hipótese estatística ou alternativa
HDL	High-density lipoprotein cholesterol
HOMA-IR	Homeostasis model assessment of insulin resistance
IBW	Initial body weight
IL	Interleukin
K_{ITT}	Glucose disappearance rate
LBCS	Laboratório de Biologia Celular da Secreção
MCF	Massa corpórea final do animal com tumor
MCI	Massa corpórea inicial do animal com tumor
mRNA	Messenger RNA
MRS	Maximal running speed
MT	Massa do tumor
NCI	National Cancer Institute
NEMO	Núcleo de Estudos Multiprofissional da Obesidade
PCNA	Proliferation cell nuclear antigen
PEF	Programa de Pós-Graduação em Educação Física
PI3K-Akt/PKB	Phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B
RIA	Radioimmunoassay

SC	Sedentary control
SW	Sedentary Walker
TAGs	Triacilgliceróis/Triglycerides
TC	Trained control
TE	Teste de esforço
TM	Tumor mass
TNF-α	Tumor necrosis factor alpha
TW	Trained Walker
UEM	Universidade Estadual de Maringá
UEL	Universidade Estadual de Londrina
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VF	Von Frey
VMC	Velocidade máxima de corrida
VO_{2max}	Maximal oxygen uptake
VO_{2máx}	Consumo máximo de oxigênio
WS	Walker sedentário
WT	Walker treinado

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	01
2 OBJETIVOS	04
3 MÉTODOS	05
4 RESULTADOS	19
4.1 Manuscrito 1.....	20
4.2 Manuscrito 2.....	48
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	68
REFERÊNCIAS	70
ANEXO	82

1 INTRODUÇÃO

A evolução e o histórico das práticas corporais e da atividade física relacionada à saúde remontam de uma época envolvendo o surgimento do homem primitivo¹. Contudo, neste período da história, não se encontram indícios concretos de como eram manifestadas essas ações a não ser pelo movimento natural, espontâneo e conseqüente imitação por descendentes². A imensidão territorial, o encontro com predadores gerando situações de alto risco e estresse, a precariedade de ferramentas, a vestimenta de poucos recursos e a luta diária pela sobrevivência colaboravam para que esses indivíduos estabelecessem com o ambiente, um constante movimentar-se em caminhos inóspitos e inesperados, ficando evidente a necessidade de prontidão para os enfrentamentos seguintes³.

Na medida em que esses homens vivenciavam determinadas situações, adaptavam-se a estas e aprimoravam funções relacionadas ao potencial reprodutivo e a sobrevivência, tais como a manutenção de processos fisiológicos vitais, a aplicabilidade no uso da força, da velocidade e da agilidade e alterações morfofuncionais decorrentes⁴. Destarte, a abrangência dos elementos que envolvem o movimento humano constituído historicamente e presente em diferentes práticas corporais e programas orientados de atividade física na contemporaneidade, revela de forma contundente a necessidade de ir além do desenvolvimento e aprimoramento dos níveis de aptidão física e das premissas de se construir um estilo de vida saudável⁵.

A identificação de agentes etiológicos diretos ou indiretos envolvidos na compreensão do binômio saúde/doença no período pré-histórico e em transições culturais e socioeconômicas subsequentes, datados em estudos realizados pelas ciências naturais, humanas e aplicadas, surge como possibilidade de resgatar informações valiosas que por sua vez, possam fundamentar novos paradigmas destinados ao cuidado em saúde quando o indivíduo é o sujeito desse processo⁴. Reflexões epistemológicas a respeito do conceito de saúde complementam questões históricas e são essenciais quando se pensa em intervenção de qualquer natureza⁶.

Por muito tempo, a compreensão do significado de saúde esteve atrelada à ausência de doenças e os esforços da comunidade científica nas diferentes áreas do conhecimento estavam focados em questões preventivas, diagnósticas e terapêuticas⁷. A partir do momento em que começaram a surgir reflexões acerca da não homogeneidade de respostas fisiológicas entre indivíduos agrupados por semelhanças, e da aceitação da premissa de que condições de vida também poderiam alterar determinantes biológicos, a noção de saúde passa a ser respaldada pela interação entre os indivíduos e seu ambiente social e físico⁸.

O conceito de promoção da saúde associado a uma perspectiva social ecológica desponta em meados dos anos 80, muito embora estivesse presente de forma subliminar em estudos realizados em décadas anteriores^{9; 10}. A busca pela compreensão de fatores influenciadores do risco de um indivíduo adulto desenvolver doenças metabólicas, como a obesidade e diabetes tipo II, ou ser acometido por doenças cardiovasculares e câncer, é então contemplada pelo conceito de programação metabólica também conhecido como *Developmental Origins of Health and Diseases (DOHaD)*^{11; 12}. Tal erudição trouxe à luz da ciência a relação entre insultos advindos do ambiente ocorridos em períodos cruciais do desenvolvimento e a concepção ampliada de saúde/doença ao longo da vida¹³.

Nesse mesmo período, Rene Dubos e colaboradores demonstraram que a diminuição da exposição a ambientes naturais e a desvantagem socioeconômica, estavam relacionadas a determinantes da ocorrência de doença subsequente¹⁴. Não obstante a importância das janelas de desenvolvimento, para o grupo de Dubos não haveria nenhum período específico de vida responsável exclusivamente por determinar onde começariam e terminariam essas origens do desenvolvimento. Investigações do DOHaD nessa perspectiva estariam associadas ao conceito de justiça ecológica em detrimento da desigualdade ambiental presente em sociedades e comunidades governadas por ideologias neoliberais¹⁵.

Preocupação semelhante foi evidenciada por pesquisadores do Instituto Nacional do Câncer (NCI) nos Estados Unidos da América, na década de 1990, no que tange ao objetivo de educar a população e promover tanto a prevenção como a detecção precoce de oncologias^{16; 17}. Surge, destarte, a pesquisa translacional, constituída por estudos oriundos da pesquisa básica realizada em laboratório e a transferência desses para situações envolvendo pacientes e populações, ultrapassando questões inerentes à pesquisa tais como processos produtivos e a incorporação de novos produtos e processos nas práticas de cuidado em saúde¹⁷.

Apesar da diversidade de métodos de investigação em ciência e da aparente preocupação com o indivíduo em seu contexto, correntes positivistas têm alicerçado uma boa parte dos estudos na área biomédica e das ciências da saúde. No entanto, essas abordagens atribuem ao indivíduo a responsabilidade de contrair qualquer acometimento de ordem patológica. Um exemplo comumente citado em investigações no campo da atividade física e saúde, demonstra que a incidência e severidade de doenças podem ser fortemente relacionadas a um estilo de vida sedentário^{18; 19}.

Especificamente sobre o câncer, estudos têm colocado ao longo de décadas, a atividade física orientada tanto como estratégia de prevenção como de tratamento^{20; 21; 22; 23}. Inúmeros são os trabalhos científicos envolvendo grupos de indivíduos que adotaram mudanças no estilo de

vida e que em decorrência, alteraram biomarcadores do risco de aparecimento do câncer^{24; 25; 26; 27}. Mecanismos bioquímicos e epigenéticos que poderiam explicar tal associação têm sido elencados, incluindo alterações em níveis hormonais^{28; 29}, fatores de crescimento^{21; 30}, expressão de citocinas anti-inflamatórias^{28; 31}, vias de sinalização de síntese protéica^{31; 32; 33}, e função imunológica³⁴.

Nessa perspectiva, a magnitude do efeito protetor da atividade física é evidenciada no metabolismo^{35; 36; 37}, na redução do crescimento tumoral^{38; 39} e em focos metastáticos⁴⁰, na prevenção das consequências sistêmicas da caquexia^{28; 29; 41} e na apoptose de células tumorais^{42; 43}. No entanto, essas investigações não relatam qualquer preocupação com a realização desses protocolos em períodos cruciais do desenvolvimento dos sujeitos, nem se o exercício realizado em fase precoce pode ser considerado como um preditor de saúde na vida adulta. Apresentam ainda, divergências entre modelos experimentais e sobre níveis ideais de intensidade que confirmam resistência ao câncer, devido à extensa diversidade de tipos, processos de iniciação, progressão e metástase, assim como à diversidade de alterações provocadas pela própria atividade física⁴⁰.

Melhorar a compreensão da aplicabilidade de dados obtidos em estudos com animais de laboratório para estudos em seres humanos, parece ser uma alternativa viável em modelos pragmáticos de ciência. Por apresentarem semelhança genômica em pelo menos 95% com seres humanos, estudos com roedores permitem manipulação ambiental e genética raramente viável em se tratando de metodologias que utilizam pessoas⁴⁴. Tumores experimentais em roedores constituem uma das principais ferramentas de triagem pré-clínica antes do teste clínico em seres humanos⁴⁴, facilitando desta forma, a realização da pesquisa ou ciência translacional consolidada dentro de uma abordagem multiprofissional, preocupada em superar limitações e vieses presentes em modelos clássicos de investigação⁴⁵.

A necessidade de aproximar elementos essenciais dos pressupostos supracitados, oriundos de diferentes paradigmas técnico-científicos, justifica em parte, a realização da presente pesquisa. A existência de razões concisas relacionadas a questões práticas e éticas em estudos com câncer em seres humanos, conduz à utilização de um modelo animal com vistas a obtenção de resultados consistentes que possam contribuir com outras investigações, quer sejam relacionados à ciência básica ou aplicada ou ainda relacionados à promoção da saúde de indivíduos ou grupos de indivíduos.

Partindo-se dessas premissas, os seguintes problemas de pesquisa foram estabelecidos: *Existe diminuição do crescimento tumoral em ratos adultos que foram previamente treinados em diferentes fases do desenvolvimento? Qual o papel da insulina nesse processo?*

A presente pesquisa limitou-se à experimentação em ratos adolescentes e adultos, e à análise subsequente de parâmetros fisiológicos, biométricos e metabólicos desses. Para tanto, foi estruturada com a apresentação de dois manuscritos redigidos conforme modelo Escandinavo adotado no Programa de Pós-Graduação Associado em Educação Física UEM/UEL (instrução normativa nº 01/2017).

Com o intuito de antecipar um conhecimento e na expectativa de comprovação desse para poder ser admitido, as seguintes hipóteses foram elaboradas como possível resposta aos problemas apresentados:

H_{a1}: *Treinamento de intensidade moderada realizado na adolescência e na vida adulta pode inibir o crescimento de células tumorais em ratos* (manuscrito 1).

H_{a2}: *O crescimento do tumor de Walker-256 em ratos adultos que foram previamente treinados na adolescência pode ser influenciado pela secreção de insulina estimulada por diferentes concentrações de glicose em células beta pancreáticas* (manuscrito 2).

2 OBJETIVOS

Avaliar os efeitos protetores de um programa de treinamento de intensidade moderada ou aeróbio realizado em diferentes fases do desenvolvimento sobre o crescimento do tumor de Walker-256 em ratos adultos (manuscrito 1), e se existe interferência do hormônio insulina sobre o crescimento tumoral no modelo experimental proposto (manuscrito 2).

Também se pretendeu demonstrar alterações fisiológicas, biométricas e metabólicas que pudessem surgir em decorrência do protocolo de corrida em esteira utilizado e da inoculação tumoral subsequente. Foram então avaliados o consumo máximo de oxigênio (VO_{2máx}), a velocidade máxima de corrida, a evolução ponderal, o consumo alimentar, os estoques de gordura, a massa muscular, e os níveis plasmáticos de glicose, insulina, triacilgliceróis (TAGs), colesterol total e HDL.

Além disso, foram realizados experimentos *in vivo* e *in vitro* para avaliar a sensibilidade mecânica dos animais, bem como a tolerância à glicose, a sensibilidade periférica à insulina e a secreção de insulina por ilhotas pancreáticas isoladas estimuladas por diferentes concentrações de glicose. A morfologia do tumor e pâncreas também foram estudadas, com intuito investigar a estrutura e organização de células ou grupo de células, e contribuir simultaneamente para elucidar a fisiologia de tecidos, órgãos e sistemas envolvidos no presente estudo.

3 MÉTODOS

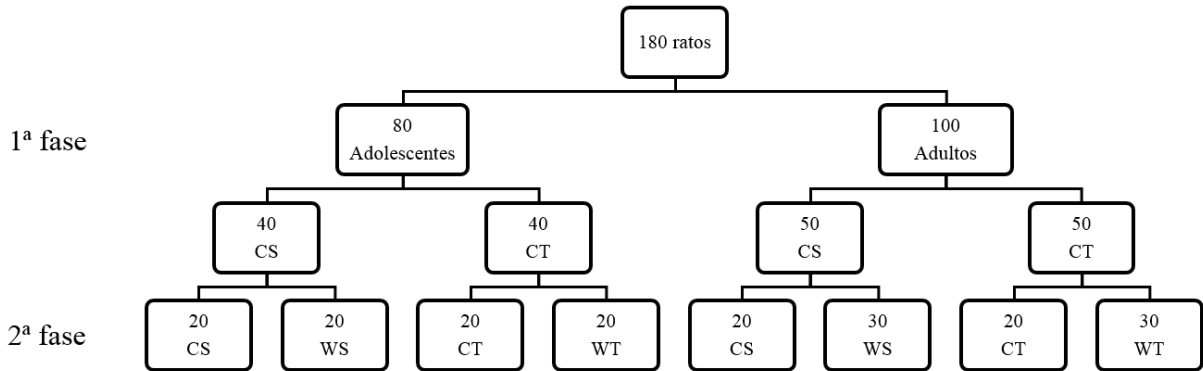
Animais e delineamento experimental

Ratos Wistar machos foram obtidos no Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e mantidos no Biotério Setorial do Laboratório de Biologia Celular da Secreção (LBCS), vinculado ao Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular da mesma instituição, com 21 e 60 dias de idade. Ao longo do período experimental, foram mantidos em gaiolas apropriadas (5 ratos por caixa) contendo água e ração (Nuvital®, Curitiba/PR, Brasil) *ad libitum* e em condições de temperatura (22 ± 2 °C) e fotoperíodo (07h00min às 19h00min, ciclo de claro) controlados. Todos os experimentos foram realizados de acordo com os padrões do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual de Maringá (Protocolo CEUA/UEM número 2585010516; anexo páginas 81-82).

Após chegada dos animais no Biotério Setorial do LBCS/UEM, estes foram randomizados em dois grupos, Controle Sedentário (CS) e Controle Treinado (CT), com auxílio do *software* random.org. Todos permaneceram por um período de adaptação de 7 dias e aos 30 e 70 dias de idade iniciaram a 1ª fase experimental ou início do tratamento com duração de 60 dias (Figura 1). Os animais do grupo CT foram submetidos a um protocolo de corrida moderada em esteira (Panlab - LE8700C 76-0553) até atingirem 90 ou 130 dias. Um grupo equivalente em idade foi mantido sedentário (CS) neste mesmo período.

Antes, durante e após o término desse período foram registrados os dados referentes ao peso corporal, ingestão alimentar, velocidade máxima atingida e consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$) obtidos no teste em esteira para definir a prescrição das sessões de treinamento. A evolução do peso corporal e a ingestão alimentar foram mensuradas a cada cinco dias. A glicemia e insulinemia basal foram determinadas ao término desse período, além da realização de testes intraperitoneais de tolerância à glicose e de sensibilidade periférica à insulina com intuito de caracterizar o metabolismo dos animais nessa fase.

Imediatamente ao término da intervenção, uma segunda fase experimental foi realizada (Quadro 1). Metade dos animais pertencentes ao CS e CT permaneceu na condição de controle e a outra metade foi inoculada com células do carcinoma de Walker 256, originando mais dois grupos, Walker Sedentário (WS) e Walker Treinado (WT). No 15º dia de inoculação os animais foram eutanasiados por decapitação para subsequente realização de análises biométricas, bioquímicas e histológicas.



QUADRO 1. Delineamento experimental elucidando as duas idades representativas do presente estudo (Adolescentes: animais que começaram o protocolo experimental com 30 dias de vida; Adultos: animais que começaram o protocolo experimental aos 70 dias de vida). Ratos sedentários e treinados foram alocados em grupos para realização de experimentos *in vivo* para caracterização da 1ª fase (Treinamento). Os remanescentes com e sem tumor sedentários e treinados foram realocados para realização de experimentos *in vivo* e eutanásia por decapitação para caracterização da 2ª fase (Inoculação do tumor de Walker-256). A comparação entre as fases permitiu avaliarmos os efeitos protetores do protocolo de exercício moderado em esteira adotado.

Procedimentos experimentais

Protocolos de adaptação, teste e treinamento

O período de adaptação dos ratos de 21 e 60 dias, ao biotério setorial e à corrida em esteira foi composto por 5 dias em sequência somados a 2 dias de descanso para posterior realização do teste de esforço e consequente prescrição das sessões de treinamento (Quadro 2).

QUADRO 2- Cronograma referente ao período de adaptação dos animais à esteira rolante

Adaptação	Vel (cm/s)	Vel (km/h)	Tempo (min)
1º dia	16 cm/s	0,6 km/h	10 min
2º dia	16 cm/s	0,6 km/h	12 min
3º dia	16 cm/s	0,6 km/h	14 min
4º dia	16 cm/s	0,6 km/h	16 min
5º dia	16 cm/s	0,6 km/h	18 min
6º dia	Descanso	Descanso	Descanso
7º dia	Descanso	Descanso	Descanso
8º dia	VO ₂ máx		

Para prescrição e controle do treinamento de corrida em esteira foi realizado um teste de esforço (TE) adaptado de Wisløff e colaboradores⁴⁶. Cada rato foi avaliado individualmente, tendo seu peso corporal do dia do teste registrado previamente na planilha do software *Metabolism* (próprio da esteira Panlab). Para que os animais não interrompessem a corrida durante o teste e que o esforço apresentado fosse fidedigno ao momento de exaustão, pequenos estímulos elétricos emitidos na grade frontal da esteira (0,2 mA em <1 segundo) foram usados

com moderação para incentivar os animais na execução do teste⁴⁷. Ratos sentem desmotivação própria da espécie, não habituada a correr em locais fechados e com incrementos contínuos de carga para determinação de variáveis fisiológicas⁴⁸.

O TE foi iniciado com cada animal sendo colocado na caixa metabólica e permanecendo 5 minutos em repouso para registros basais de trocas gasosas (Quadro 3). Posteriormente, velocidade inicial de 10 cm/s por 5 minutos (aquecimento) foi ajustada, seguida de incrementos de carga de 9 cm/s a cada 3 minutos, até a exaustão, para a obtenção da velocidade máxima de corrida (VMC) e do $VO_{2máx}$ com intuito de se prescrever intensidades progressivas de esforço (de 55% a 65% da velocidade máxima) que caracterizaram um regime de trabalho aeróbio durante a realização do treinamento.

A inclinação permaneceu em 0% durante todo o teste. A escolha de 3 minutos em cada estágio foi adaptada a partir de estudos prévios realizados pelo grupo de Wisløff, os quais relataram que o consumo de oxigênio estabiliza após aproximadamente 3 minutos em cada estágio de exercício após a mudança da carga de trabalho⁴⁶. A exaustão foi considerada quando o animal não conseguiu manter o ritmo, correndo somente com as patas dianteiras e apoiando 3 vezes as patas traseiras na grade de estímulo ou ainda, se recusando a correr^{49; 50}.

QUADRO 3- Etapas sequenciais do teste de esforço

Teste de esforço (TE) para determinação da VMC e $VO_{2máx}$		
Procedimentos de execução do teste	Tempo	Velocidade
Repouso (trocas gasosas)	5'	0
Aquecimento	5'	10 cm/s
Incrementos de carga no teste	3'	9 cm/s

Durante cada estágio (3 minutos) de exercício realizado, foram analisadas as frações dos gases contidos no ar da caixa metabólica. Foram consideradas aquelas expiradas nos 30 últimos segundos de cada estágio para a determinação do $VO_{2máx}$, específico também a cada estágio. Ao atingir a exaustão, o rato foi mantido na caixa metabólica por aproximadamente 3 minutos e as frações expiradas foram registradas para verificar a recuperação do animal e o funcionamento dos analisadores. O registro do $VO_{2máx}$ foi obtido diretamente pelo *Software Metabolism*, próprio da esteira Panlab.

Os animais do grupo treinado (CT) foram submetidos a sessões de treinamento em esteira rolante para ratos modelo Panlab LE8700C 76-0553 com base de choque inclusa, dividida em cinco baias fechadas na parte superior por tampa de acrílico que permite colocar e

retirar os animais e dispositivo de controle eletrônico de velocidade. Durante a realização das sessões de treinamento, foram utilizados estímulos elétricos entre 0,2 e 0,4 mA (< 1 segundo; máximo de 6 estímulos por sessão e por rato).

Valores na faixa de 0,34 mA até 1,6 mA não são suficientes para produzirem uma sensação de zumbido quando a grade é tocada pelo dedo humano⁵¹. Afora isso, ratos também podem exibir um comportamento normal de *stop and go* durante a corrida em esteira rolante. Isso ocorre quando eles são expostos pela primeira vez ao implemento, o que pode desaparecer com repetidas sessões de exercício utilizando pequenos estímulos elétricos até que se familiarizem com o implemento e com o protocolo de treinamento⁴⁸.

O protocolo de treinamento adaptado de Caponi e colaboradores⁵², foi realizado 3 vezes por semana num macrociclo de 8 semanas, sempre num mesmo período (pela manhã, entre 08h00min-11h00min), 44 minutos por sessão, distribuídos em 2 minutos iniciais de aquecimento a 20 cm/s, 40 minutos de treinamento na intensidade prescrita (55% a 65% da velocidade de corrida no teste de esforço) e 2 minutos de resfriamento a 20 cm/s (Quadro 4). Foram realizados testes incrementais para ajuste da carga de treino a cada 15 dias. Os protocolos de treinamento finalizaram aos 90 e 130 dias de idade.

QUADRO 4 – Roteiro das sessões semanais de treinamento após adaptação e teste de esforço

Planejamento, orientação e controle (POC) da corrida em esteira após adaptação de 5 dias				
Grupo CT - animais com 30 e 70 dias de vida				
Divisão da sessão de treinamento	Tempo	Velocidade		
Aquecimento	2'	20 cm/s		
Parte Principal	40"	55% - 58% - 60% - 60% - 63% - 65% (VMC no VO _{2máx})		
Resfriamento	2'	20 cm/s		
Duração total	44'	Dias da semana	S	Q
			S	

Indução do carcinoma - Inoculação do Tumor Walker-256

As células do tumor Walker-256 foram mantidas em ratos saudáveis por via intraperitoneal (1,0 ou 2,0x10⁶ células/animal) no Laboratório de Fisiologia Metabólica da Universidade Estadual de Londrina, sob responsabilidade da Pesquisadora Dr^a. Helenir Medri de Souza, que tem realizado colaborações com o Prof. Dr. Paulo Cezar de Freitas Mathias, Coordenador do Laboratório de Biologia Celular da Secreção na Universidade Estadual de Maringá (LBCS/UEM). O procedimento de inoculação para crescimento de tumor sólido foi realizado no LBCS/UEM.

Após uma semana de crescimento ascítico, os animais foram anestesiados com isoflurano a 3,0% (Isoflurano[®], Laboratório Abbott), por via inalatória, em objeto de plástico transparente. Posteriormente, quando houve imobilidade e perda dos reflexos, os animais foram eutanasiados através de uma superdose anestésica (Tiopental, 150mg/kg via intraperitoneal), e então laparotomizados para a remoção das células tumorais. O exsudato peritoneal foi retirado e submetido à centrifugação diferencial a 4°C para obtenção das células tumorais. As células foram ressuspensas em PBS (tampão fosfato 16,5 mM, NaCl 137 mM e KCl 2,7 mM), pH 7.4. A viabilidade celular foi avaliada pelo método de exclusão do azul de tripan em câmara de Neubauer.

Os animais do grupo WS e WT, aos 91 e aos 131 dias de vida foram inoculados por via subcutânea ($8,0 \times 10^7$ células tumorais viáveis/animal) no flanco direito posterior. Nos grupos controle foi inoculado PBS no mesmo local. Após a inoculação das células tumorais, o peso corporal dos animais e a ingestão alimentar diária foram avaliados a cada 5 dias, sendo que a sobra da ração foi pesada e subtraída da quantidade ofertada inicialmente, para o cálculo da quantidade diária ingerida por 100 gramas de peso corporal (g%). No 15º dia após a inoculação das células tumorais e jejum de 12h, os animais foram pesados e eutanasiados por decapitação para coleta do sangue total para posterior dosagens bioquímicas. Também foram retirados e pesados os principais estoques de gorduras (retroperitoneal, periepididimal e mesentérica) e amostras de tecido muscular (gastrocnêmio e sóleo). Pâncreas foram inflados com solução de Hanks para isolamento de ilhotas imediatamente após a eutanásia. Amostras de pâncreas também foram armazenadas em freezer a -80°C (Sanyo Vip[®], MDF-U36V, Moriguchi/Osaka, Japan) para posterior análise histológica.

A massa tumoral (tumor do flanco) foi dissecada e pesada em balança analítica. Também foram retiradas as metástases da região retroperitoneal. Outro grupo de animais que não recebeu a inoculação do tumor foi utilizado para avaliar o ganho de peso corporal durante os 14 dias de experimento. Esses valores foram utilizados para o cálculo da porcentagem da perda de massa corpórea de acordo com a equação abaixo, sendo que os animais foram considerados caquéticos quando apresentaram perda de massa corpórea próxima ou maior que 10%.

$$\% \text{ Perda massa corpórea} = \frac{[mci - mcf + (mt) + gmgc] \times 100}{(mci + gmgc)}$$

Onde:

mci = massa corpórea inicial do animal com tumor

mcf = massa corpórea final do animal com tumor

mt = massa do tumor

gmgc = ganho de massa do grupo controle

Dosagens bioquímicas

Para caracterização da 1ª fase deste estudo, de forma prudente e racional, e com intuito de manter a amostra sem necessidade de eutanasiar e ao mesmo tempo reduzir a solicitação de animais, foi realizada coleta de sangue através de um pequeno corte distal na cauda para coleta de sangue para imediata dosagem da glicemia e posterior dosagem da insulinemia.

Os valores glicêmicos foram obtidos com auxílio do aparelho Abbott Free Style Optimum H, que usa tiras reativas específicas e descartáveis. A insulina foi dosada por radioimunoensaio (RIA)⁵³ através de um contador de emissão de partículas gama (Wizard2 Automatic Gamma Counter, TM-2470, PerkinElmer®, Shelton/CT, USA), sendo utilizado como padrão insulina de rato, anticorpo anti-insulina de rato (Sigma-Aldrich®, St Louis/MO, USA) e insulina humana recombinante marcada com I¹²⁵ (PerkinElmer®, Shelton/CT, USA).

Ao final do período experimental ou da 2ª fase, amostras de sangue total foram coletadas pós decapitação e centrifugadas. O plasma obtido foi congelado para posteriores dosagens bioquímicas. A glicemia foi quantificada pelo método da glicose oxidase e dosada por espectrofotometria (Analisador bioquímico semiautomático, BIO200FL, Bio Plus®, São Paulo/SP, Brasil), utilizando kit comercial (Gold Analisa®, Belo Horizonte/MG, Brasil). A análise da insulinemia procedeu conforme descrito anteriormente⁵³.

O colesterol total foi dosado com o método colorimétrico de colesterol oxidase e os triacilgliceróis (TAG) pelo método colorimétrico do glicerol-3-fosfato oxidase utilizando kits comerciais (Gold Analisa®, Belo Horizonte/MG, Brasil). Ambas leituras foram realizadas em equipamento de espectrofotometria (Analisador bioquímico semiautomático, BIO200FL, Bio Plus®, São Paulo/SP, Brasil). O colesterol HDL foi determinado após precipitação de quilomícrons e lipoproteínas de baixa densidade com kit comercial (Gold Analisa®, Belo Horizonte/MG, Brasil) e posterior determinação do colesterol HDL através do método acima descrito para dosagem de colesterol total.

Experimentos *in vivo*

Teste de tolerância à glicose intraperitoneal (ipGTT)

O ipGTT foi realizado no início da 8ª semana de treinamento e após 10 dias da inoculação das células tumorais. Após 12 horas de jejum, os animais foram submetidos ao ipGTT. Foram pesados e em seguida foi realizada a coleta de sangue pela cauda para obtenção

da glicemia de jejum (tempo 0) com auxílio de um glicosímetro (Abbott Free Style Optimum H). Após, os animais receberam uma injeção intraperitoneal de glicose na concentração de 2g/Kg de peso corporal. A glicemia foi verificada aos 15, 30, 60 e 120 min após a administração da glicose. A resposta glicêmica durante o ipGTT foi avaliada pela estimativa da área total sobre a curva da glicose⁵⁴.

Teste de sensibilidade periférica à insulina intraperitoneal (ipITT)

O ipITT foi realizado no final da 8ª semana de treinamento e após 13 dias da inoculação das células tumorais. Após jejum de 6 horas, os animais foram submetidos ao ipITT. Foram pesados e em seguida foi realizada a coleta de sangue pela cauda para obtenção da glicemia de jejum (tempo 0) com auxílio de um glicosímetro (Abbott Free Style Optimum H). Após, receberam uma injeção intraperitoneal de insulina humana (Insulina lispro Humalog® – Eli Lilly) na concentração de 1U/Kg de peso corporal⁵⁴. Amostras de sangue foram imediatamente coletadas antes da injeção e nos tempos 15, 30, 45 e 60 min após a injeção. Foi calculada a taxa de desaparecimento da glucose (K_{itt}) através da fórmula $0.693/t_{1/2}$. O $t_{1/2}$ da glicose sanguínea foi calculado a partir da inclinação da reta de regressão dos valores quadrados da concentração de glicose na fase de decaimento linear⁵⁵.

Teste de sensibilidade mecânica

Esse procedimento foi realizado no Laboratório de Fisiologia Experimental do Departamento de Ciências Fisiológicas da UEM, em colaboração com a Profª. Drª. Maria Ida Speziali. Ratos inoculados ou não com células tumorais, sedentários e treinados, foram colocados numa grade elevada confeccionada com arame, tendo as superfícies plantares das suas patas traseiras direitas estimuladas com 10 monofilamentos de Von Frey (VF) para determinar o limiar de intensidade de estímulo necessário para provocar uma resposta de retirada da pata. Os testes foram realizados em dias alternados, entre 9h:00min e 11h:00min durante 12 dias. Os animais foram inicialmente habituados ao ambiente experimental durante um período de pelo menos 30 minutos. O limiar de sensibilidade mecânica foi representado como descrito em estudos prévios⁵⁶. Os dados foram apresentados em escala logarítmica a partir de uma linha de base (BL) e como área sob a curva (AUC) dessa mesma escala.

Experimentos *in vitro*

Isolamento das ilhotas pancreáticas e secreção de insulina estimulada por glicose

As ilhotas pancreáticas foram isoladas utilizando o método da colagenase e lavadas com solução de Hanks conforme previamente descrito⁵⁷. Posteriormente, grupos de 4 ilhotas/poço foram pré-incubados em banho-maria a 37 °C, por 60 minutos em 1 mL de solução Krebs-Ringer com 5,6 mM de glicose, pH 7,4 em placas de cultivo de células com 24 poços. Em seguida, o sobrenadante foi aspirado e então as ilhotas foram submetidas a uma nova incubação por 60 minutos em 1 mL de solução Krebs-Ringer contendo diferentes concentrações de glicose (5,6; 8,3; 11,1 e 16,7 mM). Ao final da incubação o sobrenadante foi recolhido para a dosagem da insulina por RIA⁵³.

Conteúdo total de insulina

Ilhotas pancreáticas foram incubadas em 1 mL de tampão álcool ácido (1,5 ml HCL em 100 mL de álcool etílico a 70%) por 24 h a 4°C. Depois disso, as amostras foram homogeneizadas e centrifugadas a 3000 rpm durante 15 min a 4°C, o sobrenadante foi coletado e diluído em solução de Krebs-Ringer (v/v 1:800) e armazenado a -20°C para a determinação do conteúdo total de insulina por RIA⁵³.

Análises histológicas

Tumor

Amostras de tumor foram fixadas em formalina tamponada 10%, desidratadas, emblocadas em parafina histológica e seccionadas em cortes não-seriados (5 µm). Os cortes foram desparafinados, reidratados e bloqueados contra peroxidase endógena. Após, foram lavados em 0,01 mol/L⁻¹ de tampão fosfato (PBS, pH 7,4) e incubados com solução bloqueadora contendo soro não imune de cabra (10%) durante 10 min. Em seguida, foram incubados com anticorpo primário monoclonal anti-proliferação celular (PCNA) em diluição de 1:100 (Zymed®, San Francisco, CA, EUA) durante 60 min. Após a lavagem (0,01 mol/L⁻¹ de PBS), os cortes foram incubados com anticorpo secundário biotilado durante 10 minutos, lavados, incubados com solução cromogênica de diaminobenzidina (DAB) durante 15 min, lavados e contra-corados com hematoxilina. As análises de células positivas para PCNA (núcleo marrom) foram realizadas usando 40 imagens digitais (× 400 ampliação) de 6 campos diferentes de cada animal (4 animais por grupo). As análises foram realizadas usando o *software* Image-Pro plus 4.5 (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, EUA)⁵⁸.

Pâncreas endócrino

Amostras de pâncreas foram fixadas em formol tamponado a 10%, desidratadas, incorporadas em parafina histológica e seccionadas (5 µm) em cortes não seriados. As amostras de tecido foram desparafinadas, reidratadas e coradas com hematoxilina e eosina (HE) ou imunocoradas com anticorpo anti-insulina. As análises morfométricas foram realizadas utilizando-se imagens digitais (TIFF 24-bit color, 2560×1920 pixels) obtidas com microscopia óptica (Olympus BX41, Tóquio, Japão) e uma câmera QColor 3 Olympus. As análises do número de ilhotas foram realizadas utilizando imagens digitais (ampliação x40) de 6 campos diferentes de cada animal (4 animais por grupo). As análises de área das ilhotas pancreáticas e de massa de células beta foram realizadas utilizando 40 imagens digitais (ampliação x400) de cada animal (4 animais por grupo). Todos os procedimentos quantitativos foram realizados usando o *software* Image-Pro Plus 4.5 (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, EUA)⁵⁹.

Procedimento estatístico

Os dados foram analisados com auxílio do *software* GraphPad Prism[®] versão 6.01 (Windows GraphPad Prism[®] Software, San Diego/CA, USA). A normalidade destes foi testada a partir do Teste de *Shapiro-Wilk*. Após, foram realizados Teste *t* de *Student* para amostras independentes, Teste *t* pareado e análise de variância de dois fatores (ANOVA Two-Way), considerando como fatores treinamento e inoculação tumoral e quando necessário, treinamento e idade. Teste de *Tuckey* foi utilizado para a comparação de grupos em diferentes situações após emprego da ANOVA. Os resultados foram apresentados em média±erro padrão da média (EPM) e o nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

Referências utilizadas na Introdução e Métodos

- ¹ BRIDGES, P. S. Vertebral arthritis and physical activities in the prehistoric Southeastern United States. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 93, n. 1, p. 83-93, 1994. ISSN 1096-8644. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/ajpa.1330930106> >.
- ² EICHBERG, H. Studium kultury ciała–praktyka obserwacyjna. **Ido-Ruch dla Kultury**, v. 1, n. 6, p. 194-200, ISSN 1730-2064.
- ³ LARSEN, C. S.; THOMAS, D. H. The anthropology of St. Catherines Island. 3, Prehistoric human biological adaptation. Anthropological papers of the AMNH; v. 57, pt. 3. 1982.

- 4 BUIKSTRA, J. E.; COOK, D. C. Palaeopathology: an American account. **Annual Review of Anthropology**, v. 9, n. 1, p. 433-470, 1980. ISSN 0084-6570.
- 5 GLASS, T. A. et al. Population based study of social and productive activities as predictors of survival among elderly Americans. **BMJ**, v. 319, n. 7208, p. 478-483, 1999.
- 6 ALMEIDA FILHO, N. D. For a general theory of health: preliminary epistemological and anthropological notes. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 17, n. 4, p. 753-770, 2001. ISSN 0102-311X.
- 7 BOORSE, C. Health as a theoretical concept. **Philosophy of science**, v. 44, n. 4, p. 542-573, 1977. ISSN 0031-8248.
- 8 HOCHBERG, Z. E. et al. Child health, developmental plasticity, and epigenetic programming. **Endocrine reviews**, v. 32, n. 2, p. 159-224, 2010. ISSN 0163-769X.
- 9 BORUCHOVITCH, E.; MEDNICK, B. R. The meaning of health and illness: some considerations for health psychology. **Psico-USF**, v. 7, p. 175-183, 2002. ISSN 1413-8271. Disponível em: <
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-82712002000200006&nrm=iso>.
- 10 STACHTCHENKO, S.; JENICEK, M. Conceptual Differences Between Prevention and Health Promotion: Research Implications for Community Health Programs. **Canadian Journal of Public Health / Revue Canadienne de Sante'e Publique**, v. 81, n. 1, p. 53-59, 1990. ISSN 00084263, 19207476. Disponível em: <
<http://www.jstor.org/stable/41989827>>.
- 11 BARKER, D. J. The developmental origins of chronic adult disease. **Acta Paediatr Suppl**, v. 93, n. 446, p. 26-33, Dec 2004. ISSN 0803-5326 (Print) 0803-5326.
- 12 BARKER, D. J. et al. The prenatal origins of lung cancer. II. The placenta. **Am J Hum Biol**, v. 22, n. 4, p. 512-6, Jul-Aug 2010. ISSN 1042-0533.
- 13 BARKER, D. J. Sir Richard Doll Lecture. Developmental origins of chronic disease. **Public Health**, v. 126, n. 3, p. 185-9, Mar 2012. ISSN 1476-5616 (Electronic) 0033-3506 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22325676>>.
- 14 DUBOS, R.; SAVAGE, D.; SCHAEGLER, R. Lasting effects of early environmental influences. **International Journal of Epidemiology**, v. 34, n. 1, p. 5-12, 2005. ISSN 0300-5771. Disponível em: <
<http://dx.doi.org/10.1093/ije/dyh309>>.
- 15 PRESCOTT, S. L.; LOGAN, A. C. Transforming Life: A Broad View of the Developmental Origins of Health and Disease Concept from an Ecological Justice Perspective. **Int J Environ Res Public Health**, v. 13, n. 11, 2016. ISSN 1660-4601. Disponível em: <
<http://dx.doi.org/10.3390/ijerph13111075>>.

- 16 DANG, C. V. E. A. **Advancing Translational Cancer Research: A Vision for Transitioning into the Future. Final Report of the BSA/NCAB SPORE Evaluation.** December 6, 2016.
- 17 GUIMARÃES, R. Translational research: an interpretation. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 18, n. 6, p. 1731-1744, 2013. ISSN 1413-8123.
- 18 MOHAMMADI, M. et al. Voluntary exercise prevents lead-induced elevation of oxidative stress and inflammation markers in male rat blood. **The Scientific World Journal**, v. 2013, 2013.
- 19 KATZMARZYK, P. T.; JANSSEN, I. The economic costs associated with physical inactivity and obesity in Canada: an update. **Canadian journal of applied physiology**, v. 29, n. 1, p. 90-115, 2004. ISSN 1066-7814.
- 20 CAMPBELL, K. L.; MCTIERNAN, A. Exercise and Biomarkers for Cancer Prevention Studies. **The Journal of Nutrition**, v. 137, n. 1, p. 161S-169S, January 1, 2007. Disponível em: < <http://jn.nutrition.org/content/137/1/161S.abstract> >.
- 21 FRIEDENREICH, C. M.; ORENSTEIN, M. R. Physical activity and cancer prevention: etiologic evidence and biological mechanisms. **J Nutr**, v. 132, n. 11 Suppl, p. 3456S-3464S, 2002. ISSN 0022-3166. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12421870> >.
- 22 NEWTON, R. U.; GALVÃO, D. A. Exercise in prevention and management of cancer. **Curr Treat Options Oncol**, v. 9, n. 2-3, p. 135-46, 2008. ISSN 1534-6277. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s11864-008-0065-1> >.
- 23 ROGERS, C. J. et al. Physical activity and cancer prevention : pathways and targets for intervention. **Sports Med**, v. 38, n. 4, p. 271-96, 2008. ISSN 0112-1642. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18348589> >.
- 24 COURNEYA, K. S. et al. Randomized controlled trial of the effects of aerobic exercise on physical functioning and quality of life in lymphoma patients. **J Clin Oncol**, v. 27, n. 27, p. 4605-12, 2009. ISSN 1527-7755. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2008.20.0634> >.
- 25 JONES, L. W. et al. The lung cancer exercise training study: a randomized trial of aerobic training, resistance training, or both in postsurgical lung cancer patients: rationale and design. **BMC Cancer**, v. 10, p. 155, 2010. ISSN 1471-2407. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2407-10-155> >.
- 26 OLDERVOLL, L. M. et al. Physical exercise results in the improved subjective well-being of a few or is effective rehabilitation for all cancer patients? **Eur J Cancer**, v. 40, n. 7, p. 951-62, 2004. ISSN 0959-8049. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2003.12.005> >.
- 27 VERMAETE, N. et al. Physical activity, physical fitness and the effect of exercise training interventions in lymphoma patients: a systematic review. **Ann Hematol**, v. 92,

- n. 8, p. 1007-21, 2013. ISSN 1432-0584. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00277-013-1689-1> >.
- 28 DONATTO, F. F. et al. Resistance exercise modulates lipid plasma profile and cytokine content in the adipose tissue of tumour-bearing rats. **Cytokine**, v. 61, n. 2, p. 426-32, Feb 2013. ISSN 1096-0023 (Electronic) 1043-4666 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23178146> >.
- 29 LIRA, F. S. et al. Effect of endurance training upon lipid metabolism in the liver of cachectic tumour-bearing rats. **Cell Biochem Funct**, v. 26, n. 6, p. 701-8, 2008. ISSN 1099-0844. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/cbf.1495> >.
- 30 SHALAMZARI, S. A. et al. The effect of exercise training on the level of tissue IL-6 and vascular endothelial growth factor in breast cancer bearing mice. **Iran J Basic Med Sci**, v. 17, n. 4, p. 231-58, 2014. ISSN 2008-3866 (Print) 2008-3866 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24904714> >.
- 31 PADRÃO, A. I. et al. Endurance training prevents TWEAK but not myostatin-mediated cardiac remodelling in cancer cachexia. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 567, n. 0, p. 13-21, 2/1/ 2015. ISSN 0003-9861. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003986114004512> >.
- 32 HORNBERGER, T. A.; SUKHUJA, K. B.; CHIEN, S. Regulation of mTOR by mechanically induced signaling events in skeletal muscle. **Cell Cycle**, v. 5, n. 13, p. 1391-6, 2006. ISSN 1551-4005. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16855395> >.
- 33 ZANCHI, N. E.; LANCHI, A. H. Mechanical stimuli of skeletal muscle: implications on mTOR/p70s6k and protein synthesis. **Eur J Appl Physiol**, v. 102, n. 3, p. 253-63, 2008. ISSN 1439-6319. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00421-007-0588-3> >.
- 34 BACURAU, R. F. P. et al. Effect of a moderate intensity exercise training protocol on the metabolism of macrophages and lymphocytes of tumour-bearing rats. **Cell Biochemistry and Function**, v. 18, n. 4, p. 249-258, 2000. ISSN 1099-0844. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1002/1099-0844\(200012\)18:4<249::AID-CBF879>3.0.CO;2-2](http://dx.doi.org/10.1002/1099-0844(200012)18:4<249::AID-CBF879>3.0.CO;2-2) >.
- 35 BAER, H. J. et al. Body fatness at young ages and risk of breast cancer throughout life. **Am J Epidemiol**, v. 171, n. 11, p. 1183-94, 2010. ISSN 1476-6256. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1093/aje/kwq045> >.
- 36 DANERYD, P. et al. Insulin sensitivity, hormonal levels and skeletal muscle protein metabolism in tumour-bearing exercising rats. **Eur J Cancer**, v. 31a, n. 1, p. 97-103, 1995. ISSN 0959-8049 (Print) 0959-8049.
- 37 MURTON, A. J.; GREENHAFF, P. L. Resistance exercise and the mechanisms of muscle mass regulation in humans: acute effects on muscle protein turnover and the gaps in our understanding of chronic resistance exercise training adaptation. **Int J**

- Biochem Cell Biol**, v. 45, n. 10, p. 2209-14, 2013. ISSN 1878-5875. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2013.07.005> >.
- 38 DE LIMA, C. et al. Tumor growth reduction in Walker 256 tumor-bearing rats performing anaerobic exercise: participation of Bcl-2, Bax, apoptosis, and peroxidation. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 36, n. 4, p. 533-538, 2011/08/01 2011. ISSN 1715-5312. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1139/h11-047> >. Acesso em: 2015/06/07.
- 39 DE LIMA, C. et al. Anaerobic exercise reduces tumor growth, cancer cachexia and increases macrophage and lymphocyte response in Walker 256 tumor-bearing rats. **Eur J Appl Physiol**, v. 104, n. 6, p. 957-64, 2008. ISSN 1439-6319. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00421-008-0849-9> >.
- 40 HOFFMAN-GOETZ, L. Exercise, natural immunity, and tumor metastasis. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 26, n. 2, p. 157-163, 1994. ISSN 0195-9131.
- 41 LIRA, F. S.; NETO, J. C. R.; SEELAENDER, M. Exercise training as treatment in cancer cachexia. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 39, n. 6, p. 679-686, 2014/06/01 2014. ISSN 1715-5312. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1139/apnm-2013-0554> >. Acesso em: 2015/07/05.
- 42 CAMPBELL, K. L. et al. Effect of a 12-month exercise intervention on the apoptotic regulating proteins Bax and Bcl-2 in colon crypts: a randomized controlled trial. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 16, n. 9, p. 1767-74, 2007. ISSN 1055-9965. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-07-0291> >.
- 43 PHANEUF, S.; LEEUWENBURGH, C. Apoptosis and exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 33, n. 3, p. 393-6, 2001. ISSN 0195-9131. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11252065> >.
- 44 DE JONG, M.; MAINA, T. Of Mice and Humans: Are They the Same?—Implications in Cancer Translational Research. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 51, n. 4, p. 501-504, April 1, 2010 2010. Disponível em: < <http://jnm.snmjournals.org/content/51/4/501.abstract> >.
- 45 SHULTZ, L. D.; ISHIKAWA, F.; GREINER, D. L. Humanized mice in translational biomedical research. **Nat Rev Immunol**, v. 7, n. 2, p. 118-130, 02//print 2007. ISSN 1474-1733. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/nri2017> >.
- 46 WISLØFF, U. et al. Intensity-controlled treadmill running in rats: $\dot{V}O_2$ max and cardiac hypertrophy. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 280, n. 3, p. H1301-H1310, 2001. ISSN 0363-6135.
- 47 RADAHMADI, M. et al. The effect of synchronized forced running with chronic stress on short, mid and long-term memory in rats. **Asian journal of sports medicine**, v. 4, n. 1, p. 54, 2013. ISSN 2008-000X.
- 48 JONES, J. H. Resource book for the design of animal exercise protocols. **American Journal of Veterinary Research**, v. 68, n. 6, p. 583-583, 2007.

- 49 RODRIGUES, B. et al. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. **Cardiovascular diabetology**, v. 6, n. 1, p. 1, 2007. ISSN 1475-2840.
- 50 WISLOFF, U. et al. Intensity-controlled treadmill running in rats: VO₂ max and cardiac hypertrophy. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 280, 2001.
- 51 WARING, C. D. et al. Cardiac adaptations from 4 weeks of intensity-controlled vigorous exercise are lost after a similar period of detraining. **Physiological reports**, v. 3, n. 2, p. e12302, 2015. ISSN 2051-817X.
- 52 CAPONI, P. W. et al. Aerobic exercise training induces metabolic benefits in rats with metabolic syndrome independent of dietary changes. **Clinics**, v. 68, n. 7, p. 1010-1017, 2013. ISSN 1807-5932.
- 53 SCOTT, A.; ATWATER, I.; ROJAS, E. A method for the simultaneous measurement of insulin release and B cell membrane potential in single mouse islets of Langerhans. **Diabetologia**, v. 21, n. 5, p. 470-475, 1981. ISSN 0012-186X.
- 54 CALEGARI, V. C. et al. Endurance training activates AMP-activated protein kinase, increases expression of uncoupling protein 2 and reduces insulin secretion from rat pancreatic islets. **Journal of Endocrinology**, v. 208, n. 3, p. 257-264, 2011. ISSN 0022-0795.
- 55 LUNDBAEK, K. Intravenous glucose tolerance as a tool in definition and diagnosis of diabetes mellitus. **British medical journal**, v. 1, n. 5291, p. 1507, 1962.
- 56 HAINS, L. E. et al. Pain intensity and duration can be enhanced by prior challenge: initial evidence suggestive of a role of microglial priming. **The Journal of Pain**, v. 11, n. 10, p. 1004-1014, 2010. ISSN 1526-5900.
- 57 GRAVENA, C.; MATHIAS, P.; ASHCROFT, S. Acute effects of fatty acids on insulin secretion from rat and human islets of Langerhans. **Journal of Endocrinology**, v. 173, n. 1, p. 73-80, 2002. ISSN 0022-0795.
- 58 FRANCO, C. et al. Protective Effect of Metformin Against Walker 256 Tumor Growth is Not Dependent on Metabolism Improvement. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 34, n. 6, p. 1920-1932, 2014. ISSN 1421-9778.
- 59 MALTA, A. et al. Low-protein diet in adult male rats has long-term effects on metabolism. **Journal of Endocrinology**, v. 221, n. 2, p. 285-295, May 1, 2014 2014. Disponível em: < <http://joe.endocrinology-journals.org/content/221/2/285.abstract> >.

4 RESULTADOS

Os seguintes artigos originais serão apresentados nesse capítulo:

4.1 Moderate exercise training since adolescence prevents Walker-256 tumor growth in adult rats (manuscrito 1)

4.2 Aerobic exercise training attenuates tumor growth and related diseases by reducing insulin secretion and glucose availability in Walker 256 tumor bearing rats (manuscrito 2).

Moderate exercise training since adolescence prevents Walker-256 tumor growth in adult rats

Resumo

Testamos a hipótese de que o exercício moderado realizado desde a adolescência até a vida adulta, pode inibir o crescimento de células tumorais. Para este fim, ratos machos com 30 e 70 dias de vida realizaram protocolo de corrida em esteira durante 8 semanas, 3 dias/semana, 44 min/dia, 55% a 65% do $VO_{2máx}$. Após o término do treinamento, um lote de ratos foi inoculado com células do carcinoma Walker-256. Passados 15 dias da inoculação, o tumor foi pesado e parâmetros metabólicos foram avaliados. Os dados demonstraram que o desempenho físico foi melhor em ratos que iniciaram o treinamento físico na adolescência, avaliados pela velocidade máxima de corrida e pelo $VO_{2máx}$. O protocolo de exercício moderado diminuiu o índice de caquexia, proliferação celular e crescimento tumoral em ambas as idades, entretanto, foi mais acentuado em ratos exercidos na adolescência. Níveis reduzidos de glicemia, insulinemia e melhora da sensibilidade periférica à insulina não foram revertidos nos ratos com tumor Walker-256 que começaram o treinamento na adolescência. Em conclusão, o crescimento do câncer pode ser atenuado como um efeito benéfico de programação pelo treinamento com exercício moderado, especialmente se este tiver início no período da adolescência. A melhora da homeostase glicose-insulina pode estar envolvida neste processo.

Palavras-chave: Tumor de Walker-256, treinamento físico moderado, crescimento tumoral, caquexia, sensibilidade à insulina

Abstract

We tested the hypothesis that moderate exercise training performed early, starting in adolescence or later in life at adulthood, can inhibit tumor cell growth. For this purpose, male rats that were 30- and 70 days old performed a treadmill running protocol over 8 weeks, 3 days/week, 44 min/day, at 55% to 65% VO_{2max} . After the end of training, a batch of rats was inoculated with Walker 256 carcinoma cells. At 15 days after carcinoma cell inoculation, the tumor was weighed, and some metabolic parameters were evaluated. The data demonstrated that physical performance was better in rats that started exercise training at adolescence according to the final workload and VO_{2max} . Early or later moderate exercise training decreased the cachexia index, cell proliferation and tumor growth; however, the effects were more pronounced in rats that exercised in adolescence. Low glycaemia, insulinemia and tissue insulin sensitivity was not reverted in Walker 256 tumor-bearing rats who trained in adolescence. In conclusion, cancer growth can be attenuated by the beneficial programming effect of moderate exercise training, especially if it begins in adolescence. In addition, improvement in glucose-insulin homeostasis might be involved in this process.

Keywords: Walker 256 tumor, moderate exercise training, tumor growth, cachexia, insulin sensitivity.

Aerobic exercise training attenuates tumor growth and related diseases by reducing insulin secretion and glucose availability in Walker 256 tumor bearing rats

Resumo

O objetivo deste estudo foi investigar o papel da insulina no crescimento do tumor de Walker-256 em ratos adultos que foram exercitados durante a adolescência. Ratos machos Wistar de trinta dias de vida correram durante 8 semanas, 3 dias/semana, 44 min/dia, 55% a 65% VO_{2max} até 90 dias de vida. Após este período, metade dos animais sedentários e treinados foram inoculados com células do tumor de Walker-256. Sensibilidade mecânica, peso corporal, glicose plasmática, níveis de insulina, sensibilidade periférica à insulina, secreção de insulina por ilhotas pancreáticas, conteúdo total de insulina, morfologia pancreática, índice de caquexia, peso tumoral e focos metastáticos foram analisados após 15 dias. Resultados mostraram que o treinamento aeróbio não alterou a sensibilidade mecânica, mas o crescimento tumoral induziu resposta de hipersensibilidade em ambos os grupos, treinados e não treinados. Adaptações ao treinamento aeróbio provocaram redução do peso tumoral, índice de caquexia e metástase, associadas a redução da glicemia e insulinemia, hipersensibilidade à insulina tecidual e melhora do desempenho físico observado antes da inoculação das células tumorais. Além disso, o treinamento aeróbio precoce reduziu o conteúdo total de insulina bem como a secreção de insulina estimulada por glicose pelas ilhotas pancreáticas, sem prejudicar a morfologia das ilhotas. Ratos inoculados também apresentaram redução no conteúdo de ilhotas pancreáticas, porém, sem alteração na secreção de insulina. Resultados combinados sugerem que os níveis de glicose e insulina diminuíram com o exercício aeróbio precoce, antes e após a inoculação das células tumorais, podendo estar envolvidos com a atenuação do crescimento tumoral, metástases e caquexia relacionada ao câncer. A redução da secreção de insulina pelas células beta pancreáticas em animais treinados parece ser o mecanismo para explicar estes resultados e conferir uma nova terapia sensibilizante à insulina não farmacológica para prevenir o crescimento tumoral e doenças relacionadas.

Palavras-chave: Células do tumor de Walker-256, treinamento aeróbio, crescimento tumoral, secreção de insulina, ilhotas pancreáticas

Abstract

The aim of this study was to investigate the role of insulin in Walker 256 tumor growth in adult rats that underwent chronic exercise during their adolescence. Thirty-day-old male Wistar rats were engaged in treadmill running for 8 weeks, 3 days/week, 44 min/day, at 55% to 65% $\text{VO}_{2\text{max}}$ until they were 90 days old. After this period, half of the sedentary and trained animals were inoculated with Walker 256 tumor cells. Mechanical sensibility, body weight, plasma glucose, insulin levels, peripheral insulin sensitivity, pancreatic insulin secretion, total insulin content, pancreatic morphology, cachexia index, tumor weight and metastasis focus were analyzed after 15 days of tumor cell inoculation. Our results showed that aerobic exercise training did not alter mechanical sensitivity; however, tumor growth induced hypersensitivity responses in both groups (i.e., trained and untrained). Adaptations to the aerobic exercise training induced reductions in tumor weight, the cachexia index and metastasis and were associated with low glycemia and insulinemia and tissue insulin hypersensitivity. In addition, improved physical performance was observed before tumor cell inoculation. Aerobic exercise training started at a young age reduced pancreatic islet insulin content and insulin secretion in response to a glucose stimulus, without impairing islet morphology. Walker 256 tumor-bearing rats presented reduced pancreatic islet content as well, without changing insulin secretion through isolated pancreatic islets. The study results suggest that glucose and insulin levels were decreased by early aerobic exercise training before and after tumor cell inoculation and that this adaptation was involved in attenuation of tumor growth, metastasis and cancer-related cachexia. Reduced insulin secretion from pancreatic beta-cells in trained animals appears to be the mechanism underlying these results, and beginning new insulin-sensitizing non-pharmacological therapy may prevent tumor growth and related diseases.

Keywords: Walker 256 tumor cells, aerobic exercise training, tumor growth, insulin secretion, pancreatic islets.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O problema do câncer no mundo apresenta relevância pelo perfil epidemiológico que essa doença vem apresentando. Nos Estados Unidos, uma entre cada 4 mortes são devido ao câncer*. Estimativas apontadas pela *International Agency for Research on Cancer* com base em dados da Organização Mundial da Saúde, demonstraram que em 2012 houve 14,1 milhões de casos novos e um total de 8,2 milhões de mortes por câncer, em todo o mundo.

Por outro lado, a incidência e severidade de patologias crônicas estão fortemente relacionadas com o sedentarismo†. O apelo por metodologias e/ou protocolos de treinamento físico que despertem o interesse da população em geral e que ao mesmo tempo contemplem aspectos preventivos e terapêuticos do exercício, deve sobrepor influências midiáticas e imediatistas descontextualizadas da emancipação em saúde e da ciência translacional.

A presente pesquisa demonstrou com propriedade, a eficácia de um protocolo de treinamento de intensidade moderada realizado em roedores no início da adolescência e da vida adulta, em reduzir o crescimento tumoral e prevenir a caquexia relacionada ao câncer. Quando esse protocolo foi realizado somente por ratos que começaram o treinamento no início da adolescência, houve redução também dos focos metastáticos.

Ratos inoculados com células do tumor de Walker-256 que foram previamente treinados na adolescência, apresentaram redução no conteúdo total de insulina, na secreção de insulina estimulada por diferentes concentrações de glicose e na insulinemia basal. A morfologia pancreática no que tange ao número e área das ilhotas não foi alterada, muito embora tenha ocorrido redução na massa de células beta-pancreáticas.

O presente estudo demonstrou também que o treinamento de intensidade moderada realizado no início da adolescência promoveu adaptações crônicas biométricas, metabólicas e fisiológicas que se mantiveram mesmo após a inoculação das células tumorais, tais como a redução na glicemia e lipoproteinemia, preservação da massa muscular, tolerância normal à glicose exógena e elevada sensibilidade periférica à insulina. Houve melhora nas variáveis de desempenho em ambas as idades, antes da inoculação das células tumorais.

Resultados combinados estão envolvidos no mecanismo de resistência ao crescimento tumoral no modelo proposto, em se tratando de animais que começaram o protocolo de

*SIEGEL, R. et al. Cancer statistics, 2014. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 64, n. 1, p. 9-29, 2014.

†KATZMARZYK, P.T., JANSSEN, I. The economic costs associated with physical inactivity and obesity in Canada: an update. **Canadian journal of applied physiology**, v. 29, n. 1, p. 90-115, 2004.

treinamento na adolescência. A homeostase glicose-insulina e a melhora na sensibilidade periférica a esse hormônio, provavelmente compensaram a redução da secreção de insulina, da insulinemia e da massa de células beta-pancreáticas nos animais treinados.

Apesar dos resultados normais de tolerância à glicose, sensibilidade periférica à insulina, glicemia e insulinemia de jejum, ratos treinados na idade adulta e inoculados com células do tumor de Walker-256, apresentaram hipertrigliceridemia e perda de massa muscular, refletindo desta forma, na menor magnitude do efeito protetor do exercício de intensidade moderada sobre a caquexia desses animais.

O compromisso de promover uma devolutiva impactante à sociedade, de grande relevância para a comunidade acadêmica e profissionais da Área da Saúde quando se pensa na realização de estudos experimentais com vistas a possibilidade de translação, a presente pesquisa trouxe à luz do conhecimento científico uma nova terapia não-farmacológica de sensibilização à insulina como parte de estratégias preventivas de combate ao câncer e de atenuação do crescimento de células tumorais em indivíduos que por um motivo ou outro, poderão ser acometidos por essa doença.

Recomenda-se a sua continuidade, analisando no mesmo modelo de treinamento proposto, parâmetros não relacionados à hipótese metabólica evidenciada na delimitação do estudo, mas que a complementam e que são indicativos de efeitos benéficos do treinamento, como por exemplo, marcadores da função imunológica, da vascularização das células tumorais e da expressão gênica de proteínas relacionadas ao transporte de diferentes nutrientes para a célula tumoral.

Sugere-se ainda, a realização de experimentos complementares que elucidem as razões pelas quais a inoculação de células tumorais provocou alterações na morfologia pancreática sem contudo prejudicar a secreção de insulina e a homeostase glicêmica em ratos que não realizaram o protocolo proposto no início da adolescência. Uma análise da sobrevivência pós inoculação celular, pode ajudar a esclarecer a permanência ou não desses efeitos.

Consolida-se destarte, uma linha de estudo e pesquisa no PEF-LBCS/UEM que pode tanto seguir ampliando a gama de resultados e mecanismos que complementem os achados no modelo experimental proposto, como também apresentar novos modelos de intervenção enquanto prevenção e outros protocolos de treinamento associados a estratégias de tratamento, em se tratando de animais inoculados com células tumorais.

REFERÊNCIAS

- 1 BRIDGES, P. S. Vertebral arthritis and physical activities in the prehistoric Southeastern United States. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 93, n. 1, p. 83-93, 1994. ISSN 1096-8644. Disponível em: <
<http://dx.doi.org/10.1002/ajpa.1330930106>>.
- 2 EICHBERG, H. Studium kultury ciała–praktyka obserwacyjna. **Ido-Ruch dla Kultury**, v. 1, n. 6, p. 194-200, ISSN 1730-2064.
- 3 LARSEN, C. S.; THOMAS, D. H. The anthropology of St. Catherines Island. 3, Prehistoric human biological adaptation. Anthropological papers of the AMNH; v. 57, pt. 3. 1982.
- 4 BUIKSTRA, J. E.; COOK, D. C. Palaeopathology: an American account. **Annual Review of Anthropology**, v. 9, n. 1, p. 433-470, 1980. ISSN 0084-6570.
- 5 GLASS, T. A. et al. Population based study of social and productive activities as predictors of survival among elderly Americans. **BMJ**, v. 319, n. 7208, p. 478-483, 1999.
- 6 ALMEIDA FILHO, N. D. For a general theory of health: preliminary epistemological and anthropological notes. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 17, n. 4, p. 753-770, 2001. ISSN 0102-311X.
- 7 BOORSE, C. Health as a theoretical concept. **Philosophy of science**, v. 44, n. 4, p. 542-573, 1977. ISSN 0031-8248.
- 8 HOCHBERG, Z. E. et al. Child health, developmental plasticity, and epigenetic programming. **Endocrine reviews**, v. 32, n. 2, p. 159-224, 2010. ISSN 0163-769X.
- 9 BORUCHOVITCH, E.; MEDNICK, B. R. The meaning of health and illness: some considerations for health psychology. **Psico-USF**, v. 7, p. 175-183, 2002. ISSN 1413-8271. Disponível em: <
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-82712002000200006&nrm=iso>.
- 10 STACHTCHENKO, S.; JENICEK, M. Conceptual Differences Between Prevention and Health Promotion: Research Implications for Community Health Programs. **Canadian Journal of Public Health / Revue Canadienne de Sante'e Publique**, v. 81, n. 1, p. 53-59, 1990. ISSN 00084263, 19207476. Disponível em: <
<http://www.jstor.org/stable/41989827>>.
- 11 BARKER, D. J. The developmental origins of chronic adult disease. **Acta Paediatr Suppl**, v. 93, n. 446, p. 26-33, Dec 2004. ISSN 0803-5326 (Print) 0803-5326.
- 12 BARKER, D. J. et al. The prenatal origins of lung cancer. II. The placenta. **Am J Hum Biol**, v. 22, n. 4, p. 512-6, Jul-Aug 2010. ISSN 1042-0533.

- 13 BARKER, D. J. Sir Richard Doll Lecture. Developmental origins of chronic disease. **Public Health**, v. 126, n. 3, p. 185-9, Mar 2012. ISSN 1476-5616 (Electronic) 0033-3506 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22325676> >.
- 14 DUBOS, R.; SAVAGE, D.; SCHAEDLER, R. Lasting effects of early environmental influences. **International Journal of Epidemiology**, v. 34, n. 1, p. 5-12, 2005. ISSN 0300-5771. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1093/ije/dyh309> >.
- 15 PRESCOTT, S. L.; LOGAN, A. C. Transforming Life: A Broad View of the Developmental Origins of Health and Disease Concept from an Ecological Justice Perspective. **Int J Environ Res Public Health**, v. 13, n. 11, 2016. ISSN 1660-4601. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph13111075> >.
- 16 DANG, C. V. E. A. **Advancing Translational Cancer Research: A Vision for Transitioning into the Future. Final Report of the BSA/NCAB SPORE Evaluation.** December 6, 2016.
- 17 GUIMARÃES, R. Translational research: an interpretation. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 18, n. 6, p. 1731-1744, 2013. ISSN 1413-8123.
- 18 MOHAMMADI, M. et al. Voluntary exercise prevents lead-induced elevation of oxidative stress and inflammation markers in male rat blood. **The Scientific World Journal**, v. 2013, 2013.
- 19 KATZMARZYK, P. T.; JANSSEN, I. The economic costs associated with physical inactivity and obesity in Canada: an update. **Canadian journal of applied physiology**, v. 29, n. 1, p. 90-115, 2004. ISSN 1066-7814.
- 20 CAMPBELL, K. L.; MCTIERNAN, A. Exercise and Biomarkers for Cancer Prevention Studies. **The Journal of Nutrition**, v. 137, n. 1, p. 161S-169S, January 1, 2007 2007. Disponível em: < <http://jn.nutrition.org/content/137/1/161S.abstract> >.
- 21 FRIEDENREICH, C. M.; ORENSTEIN, M. R. Physical activity and cancer prevention: etiologic evidence and biological mechanisms. **J Nutr**, v. 132, n. 11 Suppl, p. 3456S-3464S, 2002. ISSN 0022-3166. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12421870> >.
- 22 NEWTON, R. U.; GALVÃO, D. A. Exercise in prevention and management of cancer. **Curr Treat Options Oncol**, v. 9, n. 2-3, p. 135-46, 2008. ISSN 1534-6277. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s11864-008-0065-1> >.
- 23 ROGERS, C. J. et al. Physical activity and cancer prevention : pathways and targets for intervention. **Sports Med**, v. 38, n. 4, p. 271-96, 2008. ISSN 0112-1642. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18348589> >.
- 24 COURNEYA, K. S. et al. Randomized controlled trial of the effects of aerobic exercise on physical functioning and quality of life in lymphoma patients. **J Clin Oncol**, v. 27, n. 27, p. 4605-12, 2009. ISSN 1527-7755. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2008.20.0634> >.

- 25 JONES, L. W. et al. The lung cancer exercise training study: a randomized trial of aerobic training, resistance training, or both in postsurgical lung cancer patients: rationale and design. **BMC Cancer**, v. 10, p. 155, 2010. ISSN 1471-2407. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2407-10-155> >.
- 26 OLDERVOLL, L. M. et al. Physical exercise results in the improved subjective well-being of a few or is effective rehabilitation for all cancer patients? **Eur J Cancer**, v. 40, n. 7, p. 951-62, 2004. ISSN 0959-8049. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2003.12.005> >.
- 27 VERMAETE, N. et al. Physical activity, physical fitness and the effect of exercise training interventions in lymphoma patients: a systematic review. **Ann Hematol**, v. 92, n. 8, p. 1007-21, 2013. ISSN 1432-0584. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00277-013-1689-1> >.
- 28 DONATTO, F. F. et al. Resistance exercise modulates lipid plasma profile and cytokine content in the adipose tissue of tumour-bearing rats. **Cytokine**, v. 61, n. 2, p. 426-32, Feb 2013. ISSN 1096-0023 (Electronic) 1043-4666 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23178146> >.
- 29 LIRA, F. S. et al. Effect of endurance training upon lipid metabolism in the liver of cachectic tumour-bearing rats. **Cell Biochem Funct**, v. 26, n. 6, p. 701-8, 2008. ISSN 1099-0844. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/cbf.1495> >.
- 30 SHALAMZARI, S. A. et al. The effect of exercise training on the level of tissue IL-6 and vascular endothelial growth factor in breast cancer bearing mice. **Iran J Basic Med Sci**, v. 17, n. 4, p. 231-58, 2014. ISSN 2008-3866 (Print) 2008-3866 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24904714> >.
- 31 PADRÃO, A. I. et al. Endurance training prevents TWEAK but not myostatin-mediated cardiac remodelling in cancer cachexia. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 567, n. 0, p. 13-21, 2/1/ 2015. ISSN 0003-9861. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003986114004512> >.
- 32 HORNBERGER, T. A.; SUKHIJA, K. B.; CHIEN, S. Regulation of mTOR by mechanically induced signaling events in skeletal muscle. **Cell Cycle**, v. 5, n. 13, p. 1391-6, 2006. ISSN 1551-4005. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16855395> >.
- 33 ZANCHI, N. E.; LANCHI, A. H. Mechanical stimuli of skeletal muscle: implications on mTOR/p70s6k and protein synthesis. **Eur J Appl Physiol**, v. 102, n. 3, p. 253-63, 2008. ISSN 1439-6319. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00421-007-0588-3> >.
- 34 BACURAU, R. F. P. et al. Effect of a moderate intensity exercise training protocol on the metabolism of macrophages and lymphocytes of tumour-bearing rats. **Cell Biochemistry and Function**, v. 18, n. 4, p. 249-258, 2000. ISSN 1099-0844. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1002/1099-0844\(200012\)18:4<249::AID-CBF879>3.0.CO;2-2](http://dx.doi.org/10.1002/1099-0844(200012)18:4<249::AID-CBF879>3.0.CO;2-2) >.

- 35 BAER, H. J. et al. Body fatness at young ages and risk of breast cancer throughout life. **Am J Epidemiol**, v. 171, n. 11, p. 1183-94, 2010. ISSN 1476-6256. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1093/aje/kwq045> >.
- 36 DANERYD, P. et al. Insulin sensitivity, hormonal levels and skeletal muscle protein metabolism in tumour-bearing exercising rats. **Eur J Cancer**, v. 31a, n. 1, p. 97-103, 1995. ISSN 0959-8049 (Print) 0959-8049.
- 37 MURTON, A. J.; GREENHAFF, P. L. Resistance exercise and the mechanisms of muscle mass regulation in humans: acute effects on muscle protein turnover and the gaps in our understanding of chronic resistance exercise training adaptation. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 45, n. 10, p. 2209-14, 2013. ISSN 1878-5875. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2013.07.005> >.
- 38 DE LIMA, C. et al. Tumor growth reduction in Walker 256 tumor-bearing rats performing anaerobic exercise: participation of Bcl-2, Bax, apoptosis, and peroxidation. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 36, n. 4, p. 533-538, 2011/08/01 2011. ISSN 1715-5312. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1139/h11-047> >. Acesso em: 2015/06/07.
- 39 DE LIMA, C. et al. Anaerobic exercise reduces tumor growth, cancer cachexia and increases macrophage and lymphocyte response in Walker 256 tumor-bearing rats. **Eur J Appl Physiol**, v. 104, n. 6, p. 957-64, 2008. ISSN 1439-6319. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00421-008-0849-9> >.
- 40 HOFFMAN-GOETZ, L. Exercise, natural immunity, and tumor metastasis. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 26, n. 2, p. 157-163, 1994. ISSN 0195-9131.
- 41 LIRA, F. S.; NETO, J. C. R.; SEELAENDER, M. Exercise training as treatment in cancer cachexia. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 39, n. 6, p. 679-686, 2014/06/01 2014. ISSN 1715-5312. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1139/apnm-2013-0554> >. Acesso em: 2015/07/05.
- 42 CAMPBELL, K. L. et al. Effect of a 12-month exercise intervention on the apoptotic regulating proteins Bax and Bcl-2 in colon crypts: a randomized controlled trial. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 16, n. 9, p. 1767-74, 2007. ISSN 1055-9965. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-07-0291> >.
- 43 PHANEUF, S.; LEEUWENBURGH, C. Apoptosis and exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 33, n. 3, p. 393-6, 2001. ISSN 0195-9131. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11252065> >.
- 44 DE JONG, M.; MAINA, T. Of Mice and Humans: Are They the Same?—Implications in Cancer Translational Research. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 51, n. 4, p. 501-504, April 1, 2010 2010. Disponível em: < <http://jnm.snmjournals.org/content/51/4/501.abstract> >.

- 45 SHULTZ, L. D.; ISHIKAWA, F.; GREINER, D. L. Humanized mice in translational biomedical research. **Nat Rev Immunol**, v. 7, n. 2, p. 118-130, 02//print 2007. ISSN 1474-1733. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/nri2017> >.
- 46 WISLØFF, U. et al. Intensity-controlled treadmill running in rats: $\dot{V}O_2$ max and cardiac hypertrophy. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 280, n. 3, p. H1301-H1310, 2001. ISSN 0363-6135.
- 47 RADAHMADI, M. et al. The effect of synchronized forced running with chronic stress on short, mid and long-term memory in rats. **Asian journal of sports medicine**, v. 4, n. 1, p. 54, 2013. ISSN 2008-000X.
- 48 JONES, J. H. Resource book for the design of animal exercise protocols. **American Journal of Veterinary Research**, v. 68, n. 6, p. 583-583, 2007.
- 49 RODRIGUES, B. et al. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. **Cardiovascular diabetology**, v. 6, n. 1, p. 1, 2007. ISSN 1475-2840.
- 50 WISLOFF, U. et al. Intensity-controlled treadmill running in rats: VO_2 max and cardiac hypertrophy. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 280, 2001.
- 51 WARING, C. D. et al. Cardiac adaptations from 4 weeks of intensity-controlled vigorous exercise are lost after a similar period of detraining. **Physiological reports**, v. 3, n. 2, p. e12302, 2015. ISSN 2051-817X.
- 52 CAPONI, P. W. et al. Aerobic exercise training induces metabolic benefits in rats with metabolic syndrome independent of dietary changes. **Clinics**, v. 68, n. 7, p. 1010-1017, 2013. ISSN 1807-5932.
- 53 SCOTT, A.; ATWATER, I.; ROJAS, E. A method for the simultaneous measurement of insulin release and B cell membrane potential in single mouse islets of Langerhans. **Diabetologia**, v. 21, n. 5, p. 470-475, 1981. ISSN 0012-186X.
- 54 CALEGARI, V. C. et al. Endurance training activates AMP-activated protein kinase, increases expression of uncoupling protein 2 and reduces insulin secretion from rat pancreatic islets. **Journal of Endocrinology**, v. 208, n. 3, p. 257-264, 2011. ISSN 0022-0795.
- 55 LUNDBAEK, K. Intravenous glucose tolerance as a tool in definition and diagnosis of diabetes mellitus. **British medical journal**, v. 1, n. 5291, p. 1507, 1962.
- 56 HAINS, L. E. et al. Pain intensity and duration can be enhanced by prior challenge: initial evidence suggestive of a role of microglial priming. **The Journal of Pain**, v. 11, n. 10, p. 1004-1014, 2010. ISSN 1526-5900.
- 57 GRAVENA, C.; MATHIAS, P.; ASHCROFT, S. Acute effects of fatty acids on insulin secretion from rat and human islets of Langerhans. **Journal of Endocrinology**, v. 173, n. 1, p. 73-80, 2002. ISSN 0022-0795.

- 58 FRANCO, C. et al. Protective Effect of Metformin Against Walker 256 Tumor Growth is Not Dependent on Metabolism Improvement. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 34, n. 6, p. 1920-1932, 2014. ISSN 1421-9778.
- 59 MALTA, A. et al. Low-protein diet in adult male rats has long-term effects on metabolism. **Journal of Endocrinology**, v. 221, n. 2, p. 285-295, May 1, 2014 2014. Disponível em: < <http://joe.endocrinology-journals.org/content/221/2/285.abstract> >.
- 60 PEDERSEN, B.; SALTIN, B. Exercise as medicine—evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 25, n. S3, p. 1-72, 2015. ISSN 1600-0838.
- 61 KIM, H.-K. et al. Effects of Different Intensities of Endurance Exercise in Morning and Evening on the Lipid Metabolism Response. **Journal of Sports Science & Medicine**, v. 15, n. 3, p. 467, 2016.
- 62 MARSON, E. C. et al. Effects of aerobic, resistance, and combined exercise training on insulin resistance markers in overweight or obese children and adolescents: A systematic review and meta-analysis. **Preventive Medicine**, v. 93, p. 211-218, 12/2016. ISSN 0091-7435. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091743516303425> >.
- 63 JIMÉNEZ-MALDONADO, A. et al. Effect of moderate and high intensity chronic exercise on the pancreatic islet morphometry in healthy rats: BDNF receptor participation. **Islets**, n. just-accepted, p. 00-00, 2016. ISSN 1938-2014.
- 64 GHOSE, A. et al. A review of obesity, insulin resistance, and the role of exercise in breast cancer patients. **Nutrition and cancer**, v. 67, n. 2, p. 197-202, 2015. ISSN 0163-5581.
- 65 BETOF, A. S. et al. Modulation of murine breast tumor vascularity, hypoxia, and chemotherapeutic response by exercise. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 107, n. 5, p. djv040, 2015. ISSN 0027-8874.
- 66 SIEMANN, D. W.; HORSMAN, M. R. Modulation of the Tumor Vasculature and Oxygenation to Improve Therapy. **Pharmacology & therapeutics**, v. 153, p. 107-124, 06/11 2015. ISSN 0163-7258/1879-016X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4526350/> >.
- 67 BENNANI-BAITI, N.; WALSH, D. Animal models of the cancer anorexia–cachexia syndrome. **Supportive care in cancer**, v. 19, n. 9, p. 1451-1463, 2011. ISSN 0941-4355.
- 68 GUAITANI, A. et al. Walker carcinoma 256: a model for studies on tumor-induced anorexia and cachexia. **Oncology**, v. 39, n. 3, p. 173-178, 1982. ISSN 1423-0232.
- 69 WORKMAN, P. et al. Guidelines for the welfare and use of animals in cancer research. **British journal of cancer**, v. 102, n. 11, p. 1555-1577, 2010. ISSN 0007-0920.

- 70 ACHTEN, J.; GLEESON, M.; JEUKENDRUP, A. E. Determination of the exercise intensity that elicits maximal fat oxidation. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 34, n. 1, p. 92-97, 2002. ISSN 0195-9131.
- 71 TROMBINI, A. B. et al. Early treatment with metformin induces resistance against tumor growth in adult rats. **Cancer Biology & Therapy**, n. ahead-of-print, p. 1-7, 2015. ISSN 1538-4047.
- 72 SONG, Y. et al. Insulin sensitivity and insulin secretion determined by homeostasis model assessment and risk of diabetes in a multiethnic cohort of women the Women's Health Initiative Observational Study. **Diabetes care**, v. 30, n. 7, p. 1747-1752, 2007. ISSN 0149-5992.
- 73 TOMLIN, D. L.; WENGER, H. A. The Relationship Between Aerobic Fitness and Recovery from High Intensity Intermittent Exercise. **Sports Medicine**, v. 31, n. 1, p. 1-11, 2001// 2001. ISSN 1179-2035. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.2165/00007256-200131010-00001> >.
- 74 SCHRAUWEN, P.; VAN MARKEN LICHTENBELT, W. D. Combatting type 2 diabetes by turning up the heat. **Diabetologia**, v. 59, n. 11, p. 2269-2279, 2016. ISSN 0012-186X.
- 75 MARSON, E. C. et al. Effects of aerobic, resistance, and combined exercise training on insulin resistance markers in overweight or obese children and adolescents: A systematic review and meta-analysis. **Preventive Medicine**, 2016. ISSN 0091-7435.
- 76 LAMBERTUCCI, R. H. et al. Effects of aerobic exercise training on antioxidant enzyme activities and mRNA levels in soleus muscle from young and aged rats. **Mechanisms of ageing and development**, v. 128, n. 3, p. 267-275, 2007. ISSN 0047-6374.
- 77 LEHNEN, A. et al. Changes in the GLUT4 Expression by acute exercise, Exercise training and detraining in experimental models. **J Diabetes Metab S**, v. 10, p. 2, 2012.
- 78 LEHNEN, A. M. et al. The beneficial effects of exercise in rodents are preserved after detraining: a phenomenon unrelated to GLUT4 expression. **Cardiovascular diabetology**, v. 9, n. 1, p. 67, 2010. ISSN 1475-2840.
- 79 MANN, P. B. et al. Wheel running, skeletal muscle aerobic capacity and 1-methyl-1-nitrosourea induced mammary carcinogenesis in the rat. **Carcinogenesis**, v. 31, n. 7, p. 1279-1283, ISSN 0143-3334/1460-2180. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2893798/> >.
- 80 ARCIDIACONO, B. et al. Insulin Resistance and Cancer Risk: An Overview of the Pathogenetic Mechanisms. **Experimental Diabetes Research**, v. 2012, p. 12, 2012. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1155/2012/789174> >.
- 81 MITTENDORFER, B.; KLEIN, S. Effect of aging on glucose and lipid metabolism during endurance exercise. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 11, n. s1, p. S86-S91, 2001. ISSN 1526-484X.

- 82 MIKSZA, D. R. et al. Effect of infliximab on metabolic disorders induced by Walker-256 tumor in rats. **Pharmacological Reports**, v. 65, n. 4, p. 960-969, 2013. ISSN 1734-1140.
- 83 PORPORATO, P. Understanding cachexia as a cancer metabolism syndrome. **Oncogenesis**, v. 5, n. 2, p. e200, 2016.
- 84 HUNG, T. M. et al. Up-Regulation of MicroRNA-190b Plays a Role for Decreased IGF-1 That Induces Insulin Resistance in Human Hepatocellular Carcinoma. **PLoS ONE**, v. 9, n. 2, p. e89446, ISSN 1932-6203. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3930738/>>.
- 85 WANG, X. et al. Insulin resistance accelerates muscle protein degradation: activation of the ubiquitin-proteasome pathway by defects in muscle cell signaling. **Endocrinology**, v. 147, n. 9, p. 4160-4168, 2006. ISSN 0013-7227.
- 86 RAMANUJAN, V. K. Metabolic Plasticity in Cancer Cells: Reconnecting Mitochondrial Function to Cancer Control. **Journal of cell science & therapy**, v. 6, n. 3, 2015.
- 87 DEBERARDINIS, R. J. et al. The Biology of Cancer: Metabolic Reprogramming Fuels Cell Growth and Proliferation. **Cell Metabolism**, v. 7, n. 1, p. 11-20, 1// 2008. ISSN 1550-4131. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1550413107002951>>.
- 88 KONISHI, M. et al. Developing models for cachexia and their implications in drug discovery. **Expert opinion on drug discovery**, v. 10, n. 7, p. 743-752, 2015. ISSN 1746-045X.
- 89 MOLEY, J. et al. Body cell mass in cancer-bearing and anorexic patients. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 11, n. 3, p. 219-222, 1987. ISSN 0148-6071.
- 90 TISDALE, M. J. Mechanisms of cancer cachexia. **Physiological reviews**, v. 89, n. 2, p. 381-410, 2009. ISSN 0031-9333.
- 91 TOTH, M. J. et al. Age-related differences in skeletal muscle protein synthesis: relation to markers of immune activation. **American Journal of Physiology - Endocrinology And Metabolism**, v. 288, n. 5, p. E883-E891, 2005.
- 92 GOULD, D. W. et al. Cancer cachexia prevention via physical exercise: molecular mechanisms. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, Berlin/Heidelberg, v. 4, n. 2, p. 111-124, ISSN 2190-5991/2190-6009. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3684702/>>.
- 93 LIRA, F. S. et al. Hypothalamic inflammation is reversed by endurance training in anorectic-cachectic rats. **Nutrition & metabolism**, v. 8, n. 1, p. 60, 2011. ISSN 1743-7075.

- 94 MCANDREW, P. F. Fat metabolism and cancer. **Surgical Clinics of North America**, v. 66, n. 5, p. 1003-1012, 1986. ISSN 0039-6109.
- 95 HENRIQUES, F. S. et al. Early suppression of adipocyte lipid turnover induces immunometabolic modulation in cancer cachexia syndrome. **The FASEB Journal**, p. fj. 201601151R, 2017. ISSN 0892-6638.
- 96 KAZANTZIS, M.; SEELAENDER, M. C. Cancer cachexia modifies the zonal distribution of lipid metabolism-related proteins in rat liver. **Cell and tissue research**, v. 321, n. 3, p. 419-427, 2005. ISSN 0302-766X.
- 97 PARK, Y.-M. M. et al. The effect of cardiorespiratory fitness on age-related lipids and lipoproteins. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 65, n. 19, p. 2091-2100, 2015. ISSN 0735-1097.
- 98 WICHA, M. S.; LIOTTA, L. A.; KIDWELL, W. R. Effects of Free Fatty Acids on the Growth of Normal and Neoplastic Rat Mammary Epithelial Cells. **Cancer Research**, v. 39, n. 2 Part 1, p. 426-435, 1979.
- 99 DONOHOE, C. L.; RYAN, A. M.; REYNOLDS, J. V. Cancer Cachexia: Mechanisms and Clinical Implications. **Gastroenterology Research and Practice**, v. 2011, p. 13, 2011. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1155/2011/601434> >.
- 100 SALTER, J.; DE MEYER, R.; BEST, C. Effect of insulin and glucagon on tumour growth. **British Medical Journal**, v. 2, n. 5087, p. 5, 1958.
- 101 MOLEY, J. F.; MORRISON, S.; NORTON, J. A. Insulin reversal of cancer cachexia in rats. **Cancer research**, v. 45, n. 10, p. 4925-4931, 1985. ISSN 0008-5472.
- 102 DE OLIVEIRA, J. C. et al. Poor pubertal protein nutrition disturbs glucose-induced insulin secretion process in pancreatic islets and programs rats in adulthood to increase fat accumulation. **Journal of Endocrinology**, v. 216, n. 2, p. 195-206, 2013. ISSN 0022-0795.
- 103 BARKER, D. Developmental origins of chronic disease. **Public health**, v. 126, n. 3, p. 185-189, 2012. ISSN 0033-3506.
- 104 WALKER, C. L.; HO, S.-M. Developmental reprogramming of cancer susceptibility. **Nature Reviews Cancer**, v. 12, n. 7, p. 479-486, 2012. ISSN 1474-175X.
- 105 RINALDI, W. et al. Low-intensity and moderate exercise training improves autonomic nervous system activity imbalanced by postnatal early overfeeding in rats. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 11, p. 25-25, ISSN 1550-2783. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4049453/> >.
- 106 CEDERQUIST, C. T. et al. Systemic insulin sensitivity is regulated by GPS2 inhibition of AKT ubiquitination and activation in adipose tissue. **Molecular Metabolism**, v. 6, n. 1, p. 125-137, 2017. ISSN 2212-8778.

- 107 RÖDER, P. V. et al. Pancreatic regulation of glucose homeostasis. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 48, n. 3, p. e219, ISSN 1226-3613/2092-6413. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4892884/> >.
- 108 FERNANDES, L. C. et al. Insulin secretion in Walker 256 tumor cachexia. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 258, n. 6, p. E1033-E1036, 1990. ISSN 0193-1849.
- 109 GATENBY, R. A.; GILLIES, R. J. Why do cancers have high aerobic glycolysis? **Nat Rev Cancer**, v. 4, n. 11, p. 891-899, 11/print 2004. ISSN 1474-175X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/nrc1478> >.
- 110 HIRSCHEY, M. D. et al. Dysregulated metabolism contributes to oncogenesis. **Seminars in cancer biology**, v. 35 Suppl, p. S129-S150, 10/08 2015. ISSN 1044-579X/1096-3650. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4656121/> >.
- 111 ROSE, D. P.; VONA-DAVIS, L. The cellular and molecular mechanisms by which insulin influences breast cancer risk and progression. **Endocrine-related cancer**, v. 19, n. 6, p. R225-R241, 2012. ISSN 1351-0088.
- 112 KESHEL, T. E.; COKER, R. H. Exercise Training and Insulin Resistance: A Current Review. **Journal of obesity & weight loss therapy**, v. 5, n. Suppl 5, 2015.
- 113 PISTOR, K. E. et al. Lipolysis, lipogenesis, and adiposity are reduced while fatty acid oxidation is increased in visceral and subcutaneous adipocytes of endurance-trained rats. **Adipocyte**, v. 4, n. 1, p. 22-31, ISSN 2162-3945/2162-397X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4496984/> >.
- 114 ALMEIDA, P. W. M. et al. Swim training suppresses tumor growth in mice. **Journal of Applied Physiology**, v. 107, n. 1, p. 261-265, 2009. ISSN 8750-7587.
- 115 DEUSTER, P. A.; MORRISON, S. D.; AHRENS, R. A. Endurance exercise modifies cachexia of tumor growth in rats. **Med Sci Sports Exerc**, v. 17, n. 3, p. 385-92, 1985. ISSN 0195-9131. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4021782> >.
- 116 BETOF, A. S.; DEWHIRST, M. W.; JONES, L. W. Effects and potential mechanisms of exercise training on cancer progression: A translational perspective. **Brain, behavior, and immunity**, v. 30, n. 0, p. S75-S87, 05/17 2013. ISSN 0889-1591/1090-2139. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3638811/> >.
- 117 MALTA, A. et al. Neonatal treatment with scopolamine butylbromide prevents metabolic dysfunction in male rats. **Scientific Reports**, v. 6, p. 30745, 08/26/online 2016. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/srep30745> >.
- 118 TAL, M.; BENNETT, G. J. Extra-territorial pain in rats with a peripheral mononeuropathy: mechano-hyperalgesia and mechano-allodynia in the territory of an uninjured nerve. **Pain**, v. 57, n. 3, p. 375-382, 1994. ISSN 0304-3959.

- 119 RICHTER, E. A.; HARGREAVES, M. Exercise, GLUT4, and skeletal muscle glucose uptake. **Physiological reviews**, v. 93, n. 3, p. 993-1017, 2013. ISSN 0031-9333.
- 120 THOMAS, R. J.; KENFIELD, S. A.; JIMENEZ, A. Exercise-induced biochemical changes and their potential influence on cancer: a scientific review. **British Journal of Sports Medicine**, p. bjsports-2016-096343, 2016. ISSN 1473-0480.
- 121 VAN DIJK, J.-W. et al. Exercise Therapy in Type 2 Diabetes: Is daily exercise required to optimize glycemic control? **Diabetes Care**, v. 35, n. 5, p. 948-954, ISSN 0149-5992/1935-5548. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3329820/>>.
- 122 GALBO, H. et al. The effect of physical training on insulin secretion of rat pancreatic islets. **Acta Physiologica**, v. 111, n. 1, p. 75-79, 1981. ISSN 1365-201X.
- 123 KORANYI, L. I. et al. Coordinate reduction of rat pancreatic islet glucokinase and proinsulin mRNA by exercise training. **Diabetes**, v. 40, n. 3, p. 401-404, 1991. ISSN 0012-1797.
- 124 DELGHINGARO-AUGUSTO, V. et al. Voluntary running exercise prevents β -cell failure in susceptible islets of the Zucker diabetic fatty rat. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 302, n. 2, p. E254-E264, 2012. ISSN 0193-1849.
- 125 ALMEIDA, F. N. et al. Physical exercise and pancreatic islets: Acute and chronic actions on insulin secretion. **Islets**, v. 4, n. 4, p. 296-301, 2012. ISSN 1938-2014/ 1938-2022. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3496654/>>.
- 126 UEDA, H. et al. Enhanced expression of neuronal nitric oxide synthase in islets of exercise-trained rats. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 312, n. 3, p. 794-800, 2003. ISSN 0006-291X.
- 127 PAULA, F. M. et al. Exercise increases pancreatic β -cell viability in a model of type 1 diabetes through IL-6 signaling. **The FASEB Journal**, v. 29, n. 5, p. 1805-1816, 2015. ISSN 0892-6638.
- 128 CHRISTENSEN, C. S. et al. Skeletal Muscle to Pancreatic β -Cell Cross-talk: The Effect of Humoral Mediators Liberated by Muscle Contraction and Acute Exercise on β -Cell Apoptosis. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 100, n. 10, p. E1289-E1298, 2015. ISSN 0021-972X.
- 129 KUPHAL, K. E.; FIBUCH, E. E.; TAYLOR, B. K. Extended swimming exercise reduces inflammatory and peripheral neuropathic pain in rodents. **The Journal of Pain**, v. 8, n. 12, p. 989-997, 2007. ISSN 1526-5900.
- 130 SHEAHAN, T. D. et al. Voluntary Exercise Training: Analysis of Mice in Uninjured, Inflammatory, and Nerve-Injured Pain States. **PLoS ONE**, San Francisco, CA USA, v. 10, n. 7, p. e0133191, ISSN 1932-6203. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4510282/>>.

- 131 LAMBERND, S. et al. Contractile activity of human skeletal muscle cells prevents insulin resistance by inhibiting pro-inflammatory signalling pathways. **Diabetologia**, v. 55, n. 4, p. 1128-1139, 2012. ISSN 0012-186X.
- 132 SHACKELFORD, D. B.; SHAW, R. J. The LKB1-AMPK pathway: metabolism and growth control in tumor suppression. **Nature reviews. Cancer**, v. 9, n. 8, p. 563-575, 2009. ISSN 1474-175X/1474-1768. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2756045/>>.
- 133 SIEGEL. R. et al. Cancer statistics, 2014. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 64, n. 1, p. 9-29, 2014.
- 134 KATZMARZYK, P.T., JANSSEN, I. The economic costs associated with physical inactivity and obesity in Canada: an update. **Canadian journal of applied physiology**, v. 29, n. 1, p. 90-115, 2004.

ANEXO

Certificado CEUA/UEM



CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Crescimento tumoral e consequências sistêmicas da caquexia em ratos jovens e adultos exercitados previamente em esteira", protocolado sob o CEUA nº 2585010516, sob a responsabilidade de **Paulo Cezar de Freitas Mathias** e equipe; *Claudinéia Conatoni da Silva Franco; Veridiana Mota Moreira; Ananda Malta; Andrei Pavanello; Carina Previante; Douglas Almeida; Elaine Vieira; Flávio Andrade; Kelly Valério Prates; Kesia Palma Rigo; Laize Peron; Maroly Valentin Alves Pinto; Paulo Henrique Olivieri; Sandra Silva; Tatiane Ribeiro; Vander Silva Alves* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA/UEM) na reunião de 13/05/2016.

We certify that the proposal "Tumor growth and systemic consequences of cachexia in young and adult rats previously exercised on a treadmill.", utilizing 400 Heterogenics rats (400 males), protocol number CEUA 2585010516, under the responsibility of **Paulo Cezar de Freitas Mathias** and team; *Claudinéia Conatoni da Silva Franco; Veridiana Mota Moreira; Ananda Malta; Andrei Pavanello; Carina Previante; Douglas Almeida; Elaine Vieira; Flávio Andrade; Kelly Valério Prates; Kesia Palma Rigo; Laize Peron; Maroly Valentin Alves Pinto; Paulo Henrique Olivieri; Sandra Silva; Tatiane Ribeiro; Vander Silva Alves* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the State University of Maringá (CEUA/UEM) in the meeting of 05/13/2016.

Vigência da Proposta: de 07/2016 a 12/2016 Área: Biotecnologia, Genética E Biologia Celular (Dbc)

Procedência: Biotério Central da UEM

Espécie:	Ratos heterogênicos	sexo:	Machos	idade:	21 a 21 dias	N:	200
Linhagem:	Wistar			Peso:	45 a 50 g		

Procedência: Biotério Central da UEM

Espécie:	Ratos heterogênicos	sexo:	Machos	idade:	60 a 60 dias	N:	200
Linhagem:	Wistar			Peso:	280 a 300 g		

Resumo: O presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos protetores de um programa de exercício físico moderado sobre o crescimento do tumor de Walker-256 em ratos. Para tanto, ratos do sexo masculino com 30 e 70 dias de vida serão submetidos a um treinamento de corrida moderada até atingir 90 e 130 dias (Controle Treinado= CT). Um grupo com idade equivalente será mantido inativo durante o mesmo período (Controle Sedentário= CS). Ratos sedentários e treinados realizarão experimentos in vivo para caracterização da 1ª fase (treinamento). Os remanescentes com e sem tumor sedentários e treinados serão realocados para realização de experimentos in vivo e tratamento com injeção diária de insulina após o tumor se tornar palpável. No 15º dia da inoculação os animais dos 8 grupos serão eutanasiados para caracterização da 2ª segunda fase experimental (inoculação e tratamento). Em ambas as fases experimentais nas duas idades que serão estudadas, análises biométricas, bioquímicas, histológicas e moleculares serão realizadas. Os resultados serão apresentados em média ± erro padrão da média (EPM) e submetidos ao Teste t de Student para amostras independentes quando somente dois grupos forem comparados e à análise de variância (ANOVA), seguida do Teste de Tuckey, quando os 8 grupos experimentais forem comparados. O nível de significância adotado será de $p < 0,05$.

Maringá, 13 de maio de 2016

Prof. Dra. Vilma Aparecida Ferreira de Godoi
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dra. Tatiana Carlesso dos Santos
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Estadual de Maringá