

## **AVALIAÇÃO DO PAPEL DO TREINAMENTO RESISTIDO NA INFLAMAÇÃO DO TECIDO ADIPOSE BRANCO DE CAMUNDONGOS COM CAQUEXIA ASSOCIADA AO CÂNCER**

Kevin William da Costa Silva<sup>1</sup>; Miguel Luiz Batista Jr.<sup>2</sup>; Luana Garcia Leal Bueno<sup>3</sup>

1. Estudante do Curso de Educação Física; e-mail: kevinwilliam96@hotmail.com
2. Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: migueljr4@me.com
3. Doutoranda em Biotecnologia; e-mail: lu\_garcialeal@hotmail.com

Área do Conhecimento: **Biologia molecular/Fisiologia de órgãos e sistemas**

**Palavras-chave:** Tecido adiposo; Inflamação; Caquexia; Treinamento resistido.

### **INTRODUÇÃO**

A caquexia é uma síndrome inflamatória crônica de etiologia desconhecida, derivada de várias situações patológicas, que acomete principalmente a atrofia do tecido adiposo branco (TAB) e músculo estriado esquelético. Essa redução de massa total é contínua e não pode ser totalmente revertida somente pelo suporte nutricional convencional. Na caquexia, fatores derivados do tumor (IL-6, TNF- $\alpha$ ) são as principais na indução da lipólise, depleção de gordura e contribui com a atrofia da musculatura esquelética. O tecido adiposo (TA) que é bem descrito por ser um órgão endócrino, depende de vários fatores para que haja atrofia do mesmo, como maior mobilização de lipídios devido a lipólise dos adipócitos, redução de lipogênese e desregulação de sua homeostase. Durante a última década, foi observado que as células musculares também possuem alta capacidade secretora, liberando citocinas e outros peptídeos denominados como miocinas que agem endocrinamente no organismo, algumas dessas miocinas são de caráter anti-inflamatório (Ex:IL-6, IL-10) podem atenuar anormalidades na homeostase corporal causadas pela síndrome da caquexia. Entre as estratégias não farmacológicas investigadas, o exercício físico é recomendado como componente terapêutico e entre as variedades de modalidades de exercício existente, o Treinamento Resistido (TR) se destaca como componente terapêutico e é estudado por seus efeitos na força, síntese proteica, e principalmente por atenuar anomalias imunológicas e hormonais observadas na caquexia. Considerando o potencial do exercício físico em modular o quadro de inflamação sistêmica descrito na literatura, este projeto tem como principal objetivo verificar as modulações impostas pelo exercício de caráter anaeróbio (TR) em camundongos com caquexia induzida e seu efeito como possível modulador positivas alterações morfofuncionais do TA (remodelamento) e perfil inflamatório e efeitos sistêmicos.

### **OBJETIVO GERAL**

Analisar o papel do Treinamento Resistido como modulador da inflamação do tecido adiposo branco de camundongos com caquexia associada ao câncer.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar o impacto do TR nos sintomas clássicos da caquexia (redução de massa total e tecidos, inflamação crônica e marcadores bioquímicos).
- Analisar o impacto do TR no desenvolvimento tumoral.
- Verificar os impactos do TR no remodelamento e perfil inflamatório do tecido adiposo branco.

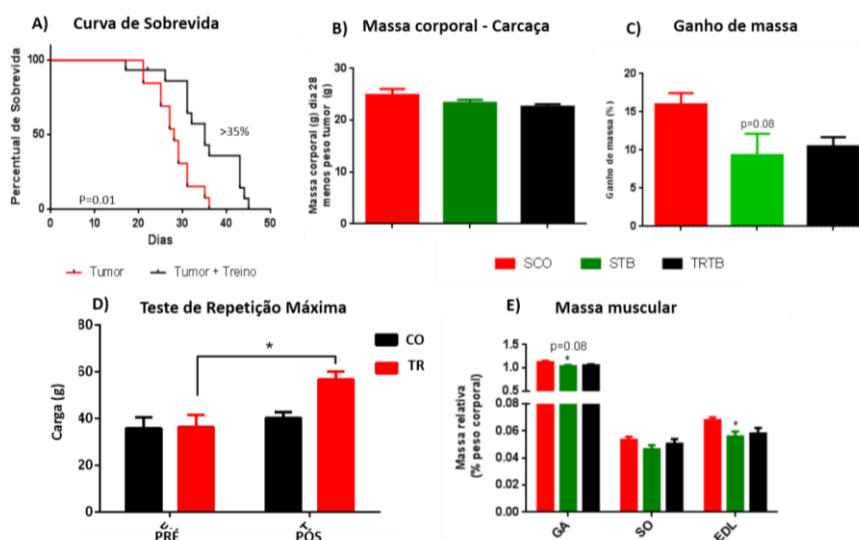
## METODOLOGIA

Foram utilizados 67 camundongos machos da linhagem C57Bl/6 (CEUA 014/2016 e 009/2017), pesando entre 18-25g, divididos randomicamente em seis grupos experimentais; Sedentário Controle (SCO, n=14); Sedentário Tumor (STB, n=13), Sedentário Tumor sobrevida (STBS, n=10), Treinado Tumor (TRTB, n=17) e Treinado Tumor sobrevida (TRTBS, n=13). Células tumorais LLC foram injetadas subcutaneamente na concentração de  $3,5 \times 10^5$ . Os grupos TR foram submetidos a 4 semanas de treinamento, compostas por 8 escaladas/dia, 4 x por semana e 70% de intensidade. Após eutanásia, o sangue foi extraído e tecidos adiposos e musculares dissecados e armazenados para análises posteriores. Realizamos análises morfológicas, morfométricas e ELISA para Soro Amilóide A. Para análise estatística utilizamos o *software GraphPad Prism 6*, utilizando o teste ANOVA *two-way* e pós-teste *Tukey* e  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 1 - Efeitos do treinamento resistido frente os sintomas clássicos da caquexia

Atualmente, a busca por métodos de intervenção para pacientes caquéticos com o objetivo de atenuar o balanço energético negativo e prolongar a sobrevida desses pacientes é muito importante, uma vez que a literatura demonstra que os pacientes com câncer acometido pela caquexia possuem uma chance de sobrevida menor quando comparados aos pacientes com câncer sem caquexia (Avan, Avan et al. 2014, Jafri, Previgliano et al. 2015).



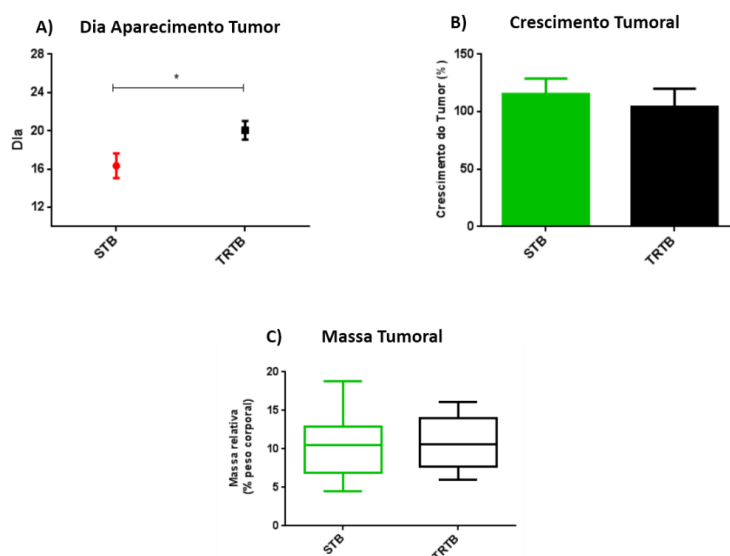
**Figura 1: Efeitos da indução da Caquexia e a resposta ao Treinamento Resistido -**  
**A)** Ensaio de Sobrevida. Teste Long-Hank (Mantel-Cox)  $p < 0,05$ . **B)** Massa da carcaça ao final do período experimental. **C)** Coeficiente de Variação do ganho de massa corporal durante o período experimental. **D)** Teste de repetição máxima. **E)** Massa muscular relativa ao peso corporal dos diferentes estoques de músculos dos membros inferiores – gastrocnêmio (GA), Sóleo (SO) e *Extensor Digitorum Longus* (EDL). Dados  $\pm$  média. \*  $p < 0,05$ .

Neste contexto, vale ressaltar que é crescente o interesse pelo uso do TR como intervensor terapêutico do câncer, mais especificamente, na prevenção e/ou reabilitação de pacientes com caquexia cancerosa. Uma das características da caquexia é o aumento da morbidade, redução da qualidade de vida, diminuição da sobrevida e o aumento da

mortalidade dos indivíduos que adquirem essa síndrome (Stephens, Skipworth et al. 2008). A busca por métodos de intervenção para pacientes caquéticos com o objetivo de atenuar o balanço energético negativo e prolongar a sobrevivência desses pacientes é importante, uma vez que a literatura demonstra que os pacientes com câncer acometido pela caquexia possuem uma chance de sobrevivência menor quando comparados aos pacientes com câncer sem caquexia (Avan, Avan et al. 2014, Jafri, Prevgliano et al. 2015). Neste contexto, vale ressaltar que é crescente o interesse pelo uso do TR como intervenor terapêutico do câncer, mais especificamente, na prevenção e/ou reabilitação de pacientes com caquexia cancerosa. Podemos observar o aumento da sobrevivência (figura 1A) dos animais expostos à intervenção do TR sobre os animais sedentários com tumor em 35% ( $p=0,01$ ). Alguns dos fatores resultantes da intervenção do TR que podem influenciar nesse aumento de sobrevivência dos animais treinados sobre os sedentários é a atenuação de alguns dos efeitos clássicos da caquexia, como a diminuição da massa corporal total e a diminuição da função física através da redução de força muscular (Fearon, Strasser et al. 2011, Fearon, Glass et al. 2012, Neves, Rosa-Neto et al. 2016). Na análise do ganho de massa durante o período experimental (figura 1C), houve uma tendência na diminuição da massa corporal total dos animais STB de aproximadamente 40% quando comparado ao grupo SCO ( $p= 0,08$ ). Essa mesma diferença não ocorreu quando comparamos o grupo TRTB com SCO (figura 1C). No entanto, ao avaliarmos os tecidos musculares (Figura 1E) verificou-se que o GA e o EDL tiveram redução de seus estoques ( $p<0,05$  entre TRTB e SCO), possivelmente em resposta aos efeitos da síndrome.

## 2- Efeitos do treinamento resistido no desenvolvimento e crescimento tumoral

Nas últimas décadas aumentou o interesse no desenvolvimento de estudos sobre o exercício como uma potente intervenção terapêutica não farmacológica na atenuação do desenvolvimento de diversas patologias, entre essas, o desenvolvimento tumoral desde a fase microambiental do tumor, pois as respostas do organismo ao exercício leva a adaptações benéficas em diversos órgãos a nível celular e sistêmico (Betof, Dewhirst et al. 2013, Koelwyn, Quail et al. 2017).



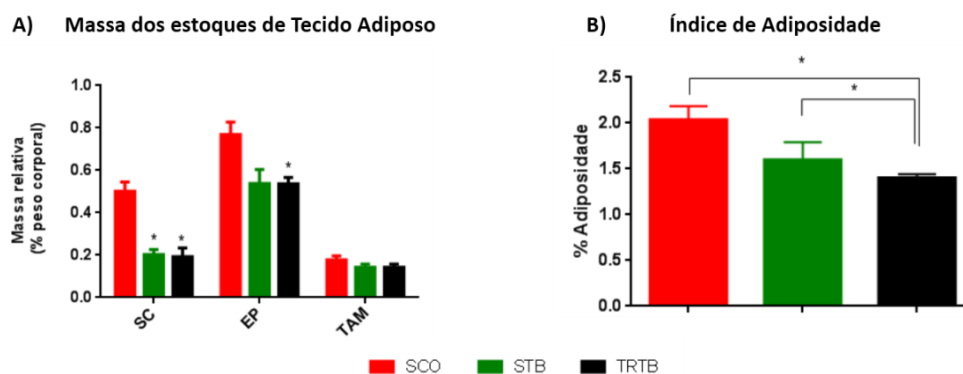
**Figura 2: Efeitos da Caquexia e do Treinamento Resistido no desenvolvimento tumoral - A) Dia do aparecimento do tumor. B) Crescimento tumoral (%). C) Massa tumoral**

relativa ao peso corporal. Dados  $\pm$  média \*representa  $p < 0,05$ . STB, Sedentário Tumor; TRTB, Treinado Tumor.

Nas análises dos dados tumorais (Figura 2) observou-se efeito do TR somente na atenuação do aparecimento tumoral (Figura 2A), retardando o aparecimento do tumor no grupo TRTB em aproximadamente 3 dias, frente o grupo STB. Nas demais análises – Crescimento tumoral (figura 2B) e massa tumoral relativa (figura 2C) não houve efeito do TR no desenvolvimento do tumor.

### 3 – Efeitos do treinamento resistido frente os sintomas clássicos da caquexia no Tecido Adiposo

Como descrito anteriormente, o TA é altamente impactado pela síndrome da caquexia e vários estudos acreditam que este é o primeiro a ser afetado (Bing, Russell et al. 2006, Das, Eder et al. 2011, Batista, Neves et al. 2012, Fearon, Glass et al. 2012). Vários fatores podem induzir a atrofia no tecido adiposo, como um número maior de mobilização de lipídios devido à lipólise de adipócitos, redução de lipogênese e a diminuição no volume da célula adiposa (Batista, Neves et al. 2012). Estudos relatam que o processo de contração muscular produz e secreta miocinas com função endócrina que podem ser capaz de modular o tecido adiposo na vigência de um quadro inflamatório (Starkie, Ostrowski et al. 2003, Batista, Lopes et al. 2009, Iizuka, Machida et al. 2014). Para este estudo, realizamos a coleta e análise dos diferentes estoques de TA (SC, EP e TAM) dos animais (SCO, STB e TRTB) com o objetivo de verificar se houveram variações morfo-estruturais nesses tecidos.



**Figura 3: Efeitos da Caquexia e do Treinamento Resistido no Tecido Adiposo – A) Massa Relativa ao peso corporal dos diferentes estoques de Tecido Adiposo – Subcutâneo (SC), Epididimal (EP) e Marrom (TAM). B) Índice de Adiposidade.** Dados  $\pm$  média \* Representa  $p < 0,05$ . SCO, Sedentário Controle; STB, Sedentário Tumor; TRTB, Treinado Tumor.

Os Resultados mostraram que os diferentes estoques de TA responderam de forma heterogênea frente à presença do tumor e TR (figura 3A). O TASC, que ocasionalmente é o mais afetado pela síndrome (Batista, Neves et al. 2012, Jurets, Itariu et al. 2017), apresentou redução de sua massa nos grupos STB e TRTB em comparação ao grupo SCO ( $p < 0,05$ ). Já no TAEP, houve redução desse estoque somente nos animais TRTB, enquanto no TAM não houve alteração de ambos os grupos quando comparados ao grupo controle. Esses resultados demonstram que o TR não foi capaz de conter a atrofia do TA. Além disso, o índice de adiposidade indica que os animais com caquexia induzida do grupo TRTB apresentaram redução na adiposidade similar frente ao grupo SCO e STB ( $p < 0,05$ ) (Figura 3B).

## CONCLUSÕES

Nossos resultados tomados em conjunto demonstram que nosso protocolo de treinamento é capaz de aumentar a sobrevivência de animais com caquexia induzida, promover aumentos na força, retardar o aparecimento tumoral e reduzir os índices de inflamação sistêmica. Adicionalmente vimos que os estoques de TAB respondem de forma heterogênea frente o impacto da presença tumoral e que o apesar de o TR não ter sido capaz de inibir o impacto da síndrome neste tecido. No entanto, maiores estudos ainda se fazem necessário para uma maior compreensão dos efeitos locais e sistêmicos do TR frente aos sintomas observados na caquexia.

## REFERÊNCIAS

Avan, A., A. Avan, T. Y. Le Large, A. Mambrini, N. Funel, M. Maftouh, M. Ghayour-Mobarhan, M. Cantore, U. Boggi, G. J. Peters, P. Pacetti and E. Giovannetti (2014). "AKT1 and SELP polymorphisms predict the risk of developing cachexia in pancreatic cancer patients." *PLoS One***9**(9): e108057.

Batista, M. L., Jr., R. D. Lopes, M. C. Seelaender and A. C. Lopes (2009). "Anti-inflammatory effect of physical training in heart failure: role of TNF-alpha and IL-10." *Arq Bras Cardiol***93**(6): 643-651, 692-700.

Batista, M. L., Jr., R. X. Neves, S. B. Peres, A. S. Yamashita, C. S. Shida, S. R. Farmer and M. Seelaender (2012). "Heterogeneous time-dependent response of adipose tissue during the development of cancer cachexia." *J Endocrinol***215**(3): 363-373.

Betof, A. S., M. W. Dewhirst and L. W. Jones (2013). "Effects and potential mechanisms of exercise training on cancer progression: a translational perspective." *Brain Behav Immun***30** **Suppl**: S75-87.

Bing, C., S. Russell, E. Becket, M. Pope, M. J. Tisdale, P. Trayhurn and J. R. Jenkins (2006). "Adipose atrophy in cancer cachexia: morphologic and molecular analysis of adipose tissue in tumour-bearing mice." *Br J Cancer***95**(8): 1028-1037.

Das, S. K., S. Eder, S. Schauer, C. Diwoy, H. Temmel, B. Guertl, G. Gorkiewicz, K. P. Tamarasani, P. Kumari, M. Trauner, R. Zimmermann, P. Vesely, G. Haemmerle, R. Zechner and G. Hoefler (2011). "Adipose triglyceride lipase contributes to cancer-associated cachexia." *Science***333**(6039): 233-238.

Fearon, K., F. Strasser, S. D. Anker, I. Bosaeus, E. Bruera, R. L. Fainsinger, A. Jatoi, C. Loprinzi, N. MacDonald, G. Mantovani, M. Davis, M. Muscaritoli, F. Ottery, L. Radbruch, P. Ravasco, D. Walsh, A. Wilcock, S. Kaasa and V. E. Baracos (2011). "Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus." *Lancet Oncol***12**(5): 489-495.

Fearon, K. C., D. J. Glass and D. C. Guttridge (2012). "Cancer cachexia: mediators, signaling, and metabolic pathways." *Cell Metab***16**(2): 153-166.

Iizuka, K., T. Machida and M. Hirafuji (2014). "Skeletal muscle is an endocrine organ." *J Pharmacol Sci***125**(2): 125-131.

Jafri, S. H., C. Previgliano, K. Khandelwal and R. Shi (2015). "Cachexia Index in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer Patients." *Clin Med Insights Oncol***9**: 87-93.

Jurets, A., B. K. Itariu, M. Keindl, G. Prager, F. Langer, V. Grablowitz, M. Zeyda and T. M. Stulnig (2017). "Upregulated TNF Expression 1 Year After Bariatric Surgery Reflects a Cachexia-Like State in Subcutaneous Adipose Tissue." *Obes Surg***27**(6): 1514-1523.

Koelwyn, G. J., D. F. Quail, X. Zhang, R. M. White and L. W. Jones (2017). "Exercise-dependent regulation of the tumour microenvironment." *Nat Rev Cancer***17**(10): 620-632.

Neves, R. X., J. C. Rosa-Neto, A. S. Yamashita, E. M. Matos-Neto, D. M. Riccardi, F. S. Lira, M. L. Batista, Jr. and M. Seelaender (2016). "White adipose tissue cells and the progression of cachexia: inflammatory pathways." *J Cachexia Sarcopenia Muscle***7**(2): 193-203.

Starkie, R., S. R. Ostrowski, S. Jauffred, M. Febbraio and B. K. Pedersen (2003). "Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF-alpha production in humans." *FASEB J***17**(8): 884-886.

Stephens, N. A., R. J. Skipworth and K. C. Fearon (2008). "Cachexia, survival and the acute phase response." *Curr Opin Support Palliat Care***2**(4): 267-274.

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de expressar aqui meus sinceros agradecimentos à todo o grupo de estudo do LaBiTA que me ajudou muito, à Universidade de Mogi das Cruzes (UMC) e ao apoio científico e financeiro dos órgãos de fomento (CAPES, CNPq e FAPESP).