

CAQUEXIA E ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS EM RATOS COM TUMOR DE WALKER 256. CACHEXIA AND BIOCHEMICAL CHANGES WALKER-256 TUMOR IN RATS

ANGELO, Heber R. S**
OLIVEIRA, Gabriela G*

RESUMO:

A caquexia, síndrome associada à perda de peso e redução da ingestão de alimentos, ocorre em muitas doenças crônicas como o câncer e é importante causa de morbidade e mortalidade. Caracteriza-se por um intenso consumo do tecido muscular e adiposo, com consequente perda involuntária de peso, além de anemia, astenia, balanço nitrogenado negativo, devido a alterações fisiológicas, metabólicas e imunológicas. A caquexia é intensificada pelas alterações no metabolismo dos nutrientes (carboidratos, proteínas e lipídios), alterações hormonais, além do aumento das citocinas circulantes (TNF-alfa, IL-1, IL-6, IFN-gama). O objetivo do presente estudo foi o estabelecimento do modelo de caquexia induzida por tumor Walker-256 em ratos e a caracterização do perfil metabólico plasmático e hepático nesta condição. A metodologia avaliada emprega o protocolo para manutenção e inoculação das células tumorais de Walker e a observação das alterações bioquímicas no 5º, 8º, 11º e 14º dia após a inoculação das células nos animais. A maioria das análises também foi feita em animais submetidos a um esquema de alimentação reduzida (animais controle *pair fed*), semelhante a dos animais com tumor, portadores de anorexia, ou em animais controles com alimentação à vontade. As evidências de que as alterações do perfil metabólico dos animais portadores de tumor não foram encontradas nos animais controle *pair fed* indicam que as mesmas não são decorrentes da menor ingestão alimentar. Estas alterações, e também as observadas na neoglicogênese, provavelmente, são mediadas por fatores produzidos pelo tumor ou pelo hospedeiro (citocinas) em resposta à presença do tumor.

36

Palavras-chave: Caquexia; câncer, tumor de Walker 256, alterações bioquímicas.

ABSTRACT:

Cachexia, syndrome associated with loss of weight and reduction in food intake, occurs in many chronic diseases, as cancer, and it is an important cause of morbidity and mortality. It is characterized by massive wasting of skeletal muscle and adipose tissue with involuntary weight loss, anemia, asthenia, and negative nitrogen balance due to immunological, physiological and metabolic changes. Cachexia is intensified by alterations in nutrient metabolism (carbohydrates, proteins, and lipids), hormonal changes, and increased serum cytokine levels (TNF α , IL-1, IL-6, IFN-g). The present study's objective was the establishment of a model of Walker-256 tumor-induced cachexia in rats and the characterization of plasmatic and hepatic metabolic profile in this condition. The evaluated methodology employs the protocol for maintenance and inoculation of Walker tumor cells and observation of biochemical changes in the 5th, 8th, 11th and 14th day after inoculation of cells in animals. Most of the analyses also were made in animals submitted to a scheme of reduced feeding (*pair fed* control animal), like anorexia-bearing animals with tumor, or in controls with feeding at will. The evidences that the alterations of the metabolic profile of tumor-bearing animals were not found in *pair fed* control animals indicates that they aren't deccurrent of lower food intake. These

** Bacharel, graduado em Biomedicina pelo Centro Universitário Filadélfia – UNIFIL

* Professora do Centro Universitário Filadélfia – UniFil.

alterations, and also the ones observed on gluconeogenesis, probably, are mediated by factors produced by the tumor or the host (cytokines) in reply to the presence of tumor.

Key words: Cachexia; cancer, Walker 256 tumor, biochemical changes.

1. INTRODUÇÃO

De acordo a Organização Mundial de Saúde (OMS), o câncer atinge pelo menos 9 milhões de pessoas e mata cerca de 5 milhões a cada ano, sendo hoje a segunda causa de morte por doença nos países desenvolvidos, perdendo apenas para as doenças cardiovasculares (American Cancer Society, 2008). Desta forma, o câncer tem se consolidado como um problema na saúde pública em âmbito mundial.

A American Câncer Society (ACS) estima que mais de 1 milhão de novos casos são diagnosticados a cada ano. No Brasil, o Instituto Nacional de Câncer (INCA), órgão do Ministério da Saúde (MS), se baseia em dados obtidos através dos Registros de Câncer de Base Populacional (RCBP) e do Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM), para desenvolver atividades relacionadas à vigilância do câncer.

As células cancerosas matam porque o tecido canceroso compete com os tecidos normais por nutrientes. Dado que as células cancerosas continuam a proliferar indefinidamente, compreende-se que estas logo demandam, em essência, toda a nutrição disponível para o corpo, ou para parte essencial dele. Como resultado os tecidos normais, gradualmente, sofrem morte nutricional (FRIEDENREICH, 2002; SILVA, 2006).

A perda de peso significativa tem associação com a anorexia, que é a perda espontânea e não intencional de apetite – e é um dos sintomas mais comuns do câncer avançado (ELEY et al. 2007). Resulta de alterações do paladar e olfato ou mudanças na regulação hipotalâmica (FRIEDENREICH, 2002). A desnutrição grave acompanhada de anorexia e astenia é denominada caquexia (SILVA, 2006).

O tumor Walker foi descoberto em 1928, pelo professor George Walker (OBA-SHINJO et al.;2003; DORNELAS et al., 2006), em seu laboratório na Escola de Medicina da Universidade de Johns Hopkins, (YANO et al., 2008) quando observou na glândula mamária de uma rata albina prenha uma massa tumoral espontânea (MOREIRA et al., 2001; VENTRUCCI et al. 2001), que segundo descrição própria regredia temporariamente durante o período de lactação e logo após voltava a recrudescer (SILVA et al. 2001; VENTRUCCI et al., 2001). O exame histopatológico revelou um adenocarcinoma (SILVA et al., 2006) e a possibilidade de seu transplante foi comprovada pelo próprio pesquisador (YANO et al., 2008).

Na ocasião, o tumor foi transplantado para outros ratos albinos com índice de “pega” de 56%. (SILVA et al., 2002). Este tipo de tumor pode ser perpetuado utilizando-se das mais variadas técnicas. Walker realizou, pela primeira vez, o transplante com fragmentos do tecido tumoral (BELT e NOEL, 1985). Posteriormente, diversos pesquisadores inocularam, por via intramuscular, suspensões tumorais obtidas da forma sólida do tumor com desenvolvimento tumoral bem sucedido (LABOMBARDI et al. 1983).

Pesquisas recentes, embasadas em novas metodologias, mostram que o índice de “pega” do tumor nos animais chega a 100% dos casos (SILVA et al., 2006), e possui menos de 0,6% de regressão espontânea, leva o hospedeiro a óbito em quase 100% dos casos, é vigoroso no seu crescimento e não é facilmente influenciado por fatores que muitas vezes atrasam o crescimento de outros tumores transplantáveis. (SHAUGHNESSY et al., 1991).

Este tumor cresce rapidamente, é multifocal (VIDO et al., 2000) e provoca importantes

mudanças metabólicas e iônicas no animal hospedeiro (MOREIRA et al., 2001). Seu crescimento leva a alterações hormonais marcadas como a insulinemia reduzida, (hipoinsulinemia) (GOMES-MARCONDES et al., 1998), o que favorece os processos metabólicos e que tem sido assumido como resultado de um estado de caquexia em duas semanas (VENTRUCCI et al., 2001), além de uma anemia temporária que sempre se desenvolve (CAVALCANTI et al., 2003).

Assim, este modelo de tumor foi escolhido para investigar as questões que dizem respeito, sobretudo, às alterações da síndrome da caquexia no câncer, pois é uma neoplasia bem caracterizada, facilmente mantida em laboratório, com eficiência comprovada em testes terapêuticos e bioquímicos (GUIMARÃES et al. 1999).

Sugere-se que fatores produzidos pelo tumor e pelo tecido do hospedeiro, na presença de certos tumores, desempenham papel importante na redução da massa tecidual e, por esta razão, são chamados de mediadores da caquexia. Dentre estes fatores encontram-se citocinas, fator mobilizador de lipídeos (LMF/ZAG), fator indutor de proteólise (PIF), hormônios catabólicos, neuropeptídeos, neurotransmissores e toxormônios (LOBERG et al., 2007; RAMOS et al., 2004; RUBIN, 2003; TISDALE, 1999, 2003).

2. METODOLOGIA

Utilizou-se como requisito primordial para este estudo, a observação de pesquisas e experimentos acerca do tumor de Walker 256 realizados no Laboratório do Departamento de Ciência Fisiológica da Universidade Estadual de Londrina (UEL), sob os cuidados da Prof^a. Dr^a. Helenir Medri dos Santos e das estagiárias do curso de Biomedicina. Foram disponibilizados gráficos que ilustram as alterações nos níveis plasmáticos do colesterol, triacilglicerol, ácidos graxos livres e os precursores neoglicogênicos (glicerol e lactato); assim como no plano da uremia, glicemia e glicogênio hepático.

Os grupos para caracterização da caquexia ou para avaliação das alterações metabólicas plasmáticas e do conteúdo de glicogênio hepático foram formados com amostragens de 5 a 20 animais cada grupo e distribuídos da seguinte maneira:

- Grupo Walker-256 (WK): ratos portadores de tumor Walker-256 alimentados à vontade, os quais foram subdivididos em 4 subgrupos – 5º, 8º, 11º e 14º dias após a inoculação das células tumorais;
- Grupo Controle Pair Fed: ratos sem tumor que receberam diariamente a mesma quantidade de ração (alimentação reduzida) que ingerem os animais do grupo tumor, os quais foram subdivididos em 4 subgrupos – 5º, 8º, 11º e 14º dias após a inoculação de PBS (salina tamponada com fosfato);
- Grupo Controle: ratos sem tumor (inoculação de PBS), alimentados à vontade.

Os ratos do grupo tumor são inoculados com $8,0 \times 10^7$ células tumorais viáveis/animal, subcutaneamente, no flanco direito traseiro. Para os grupos *pair fed* e demais controles é inoculado tampão PBS no mesmo local.

No dia antecedente ao 5º, 8º, 11º ou 14º dia após a inoculação das células tumorais (grupo WK) ou PBS (grupo controle), os animais são alojados em gaiolas individuais, com ração e água à vontade, para a análise de ingestão alimentar. Após 24 horas, a sobra da ração é pesada e subtraída da quantidade ofertada inicialmente, com o objetivo de calcular a quantidade diária ingerida por 100 gramas de peso corporal (g%). Baseado nas médias de ingestão alimentar é realizado o grupo

controle *pair fed*.

Os experimentos foram realizados de forma inteiramente casualizada e todos os dados obtidos foram testados quanto à distribuição normal (testes de Shapiro-Wilk e Lilliefors) e à homogeneidade das variâncias (testes de Levene e Brown Forsythe). Na constatação de que foram satisfeitas as condições para aplicação dos testes estatísticos paramétricos de comparação de médias. Nos conjuntos de dados em que não foram observadas distribuição normal e, principalmente, homogeneidade das variâncias, testes estatísticos não-paramétricos foram adotados.

Os resultados foram expressos como média dos resultados \pm erro padrão da média. Todas as análises foram realizadas adotando-se nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

a) Avaliação dos lipídeos plasmáticos

Como pode ser observado na figura 1, não houve mudanças nas concentrações plasmáticas de colesterol total dos grupos WK e controle *pair fed* para todos os dias analisados quando comparadas ao grupo alimentado, porém observou-se diminuição a partir do 11º dia após a inoculação das células tumorais em relação ao grupo controle *pair fed* correspondente.

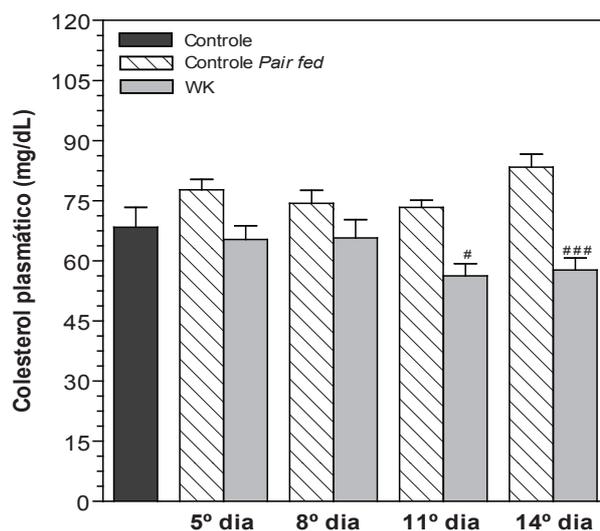


Figura 1 – Concentrações de colesterol plasmático de ratos controle, controle pair fed e portadores de tumor Walker-256 no 5º, 8º, 11º e 14º dias após a inoculação das células tumorais.

Cada barra representa a média \pm erro padrão da média de 10 a 16 experimentos. Resultados analisados por ANOVA One-Way seguida de Newman-Keuls. # $p < 0,05$ e ### $p < 0,001$ versus controle pair fed.

As concentrações plasmáticas de triacilgliceróis em ratos portadores de tumor Walker-256 aumentaram a partir do 8º dia quando comparada ao grupo controle e também a partir do 5º dia em relação ao grupo controle pair fed. Em contraste, os animais controle pair fed mostraram redução, em todos os dias analisados, nos triacilgliceróis plasmáticos em relação ao grupo controle

O aumento nos triacilgliceróis foi de 119% no 8º dia, 152% no 11º dia e 147% no 14º dia de tumor em relação ao controle.

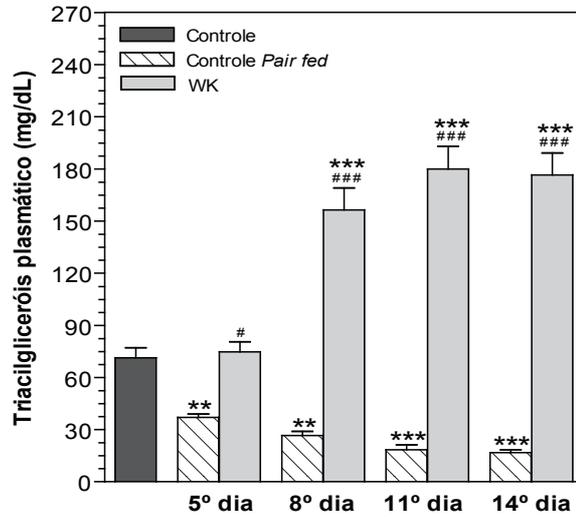


Figura 2 – Concentrações de triacilgliceróis plasmático de ratos controle, controle pair fed e portadores de tumor Walker-256 no 5º, 8º, 11º e 14º dias após a inoculação das células tumorais. Cada barra representa a média ± erro padrão da média de 9 a 16 experimentos. Resultados analisados por ANOVA One-Way seguida de Newman-Keuls. **p<0,01 e ***p<0,001 versus controle, #p<0,05 e ###p<0,001 versus controle pair fed.

Os animais portadores de tumor Walker-256 apresentaram aumento nas concentrações de ácidos graxos livres plasmático apenas no 14º dia comparado ao controle, cerca de 78%, porém, houve aumento nos ácidos graxos livres já no 11º dia de tumor em relação ao controle pair fed. Não houve alteração dos ácidos graxos livres plasmáticos entre os grupos controle pair fed e controle (figura 3).

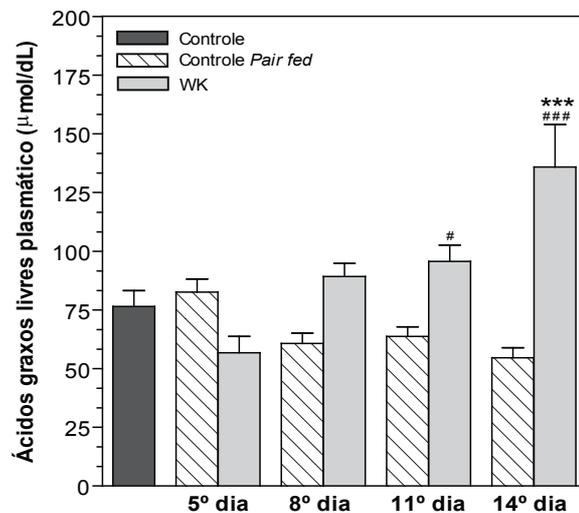


Figura 3 – Concentrações de ácidos graxos livres plasmático de ratos controle, controle pair fed e portadores de tumor Walker-256 no 5º, 8º, 11º e 14º dias após a inoculação das células tumorais. Cada barra representa a média ± erro padrão da média de 9 a 15 experimentos. Resultados analisados por ANOVA One-Way seguida de Newman-Keuls. ***p<0,001 versus controle, #p<0,05 e ###p<0,001 versus controle pair fed.

40

b) Avaliação de precursores neoglicogênicos plasmáticos

As concentrações de glicerol no plasma mantiveram-se inalteradas ao longo do desenvolvimento do tumor e no grupo controle pair fed em relação ao controle. Somente no 14º dia houve aumento de glicerol plasmático em relação ao grupo controle pair fed correspondente (figura 4).

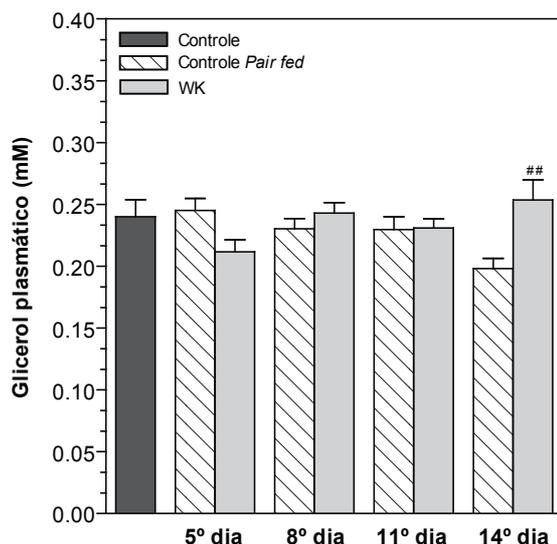


Figura 4 – Concentrações de glicerol plasmático de ratos controle, controle pair fed e portadores de tumor Walker-256 no 5º, 8º, 11º e 14º dias após a inoculação das células tumorais. Cada barra representa a média ± erro padrão da média de 8 a 15 experimentos. Resultados analisados por ANOVA One-Way seguida de Newman-Keuls. # #p<0,01 versus controle pair fed.

41

No que se refere ao lactato plasmático, houve aumento progressivo de sua concentração a partir do 8º dia de desenvolvimento tumoral tanto em relação ao grupo controle como em relação ao grupo controle pair fed correspondente (figura 5) e nenhuma alteração foi observada no grupo controle pair fed quando comparada ao controle. O aumento no lactato foi de 128%, 218% e 282% respectivamente no 8º, 11º e 14º dias de tumor em relação ao grupo controle.

R
E
V
I
S
T
A

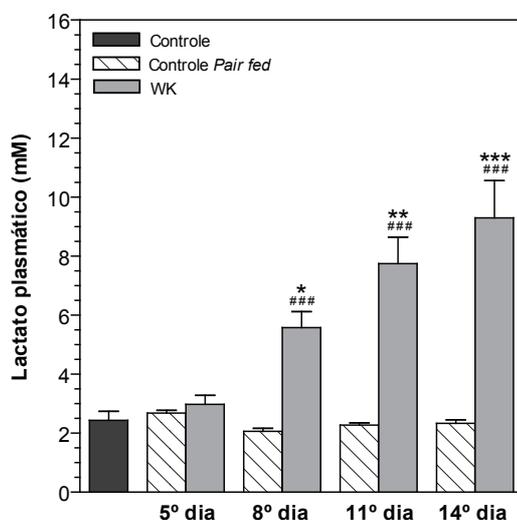


Figura 5 – Concentrações de lactato plasmático de ratos controle, controle pair fed e portadores de tumor Walker-256 no 5º, 8º, 11º e 14º dias após a inoculação das células tumorais. Cada barra representa a média erro padrão da média de 10 a 13 experimentos. Resultados analisados por Kruskal Wallis seguido por teste de Dunn. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ versus controle, # # # $p < 0,001$ versus controle pair fed.

c) Avaliação da uremia

Houve aumento significativo (231%) da concentração de uréia plasmática somente no 14º dia após a inoculação das células Walker-256, embora haja tendência de aumento ao longo do desenvolvimento tumoral (5º, 8º e 11º dias) em relação ao grupo controle. Este indicativo é apoiado pela elevação da uréia plasmática nos portadores de tumor desde o 8º dia em relação ao grupo controle pair fed correspondente (figura 6), entretanto não há diferenças entre as concentrações de uréia plasmática entre animais dos grupos controle pair fed e controle.

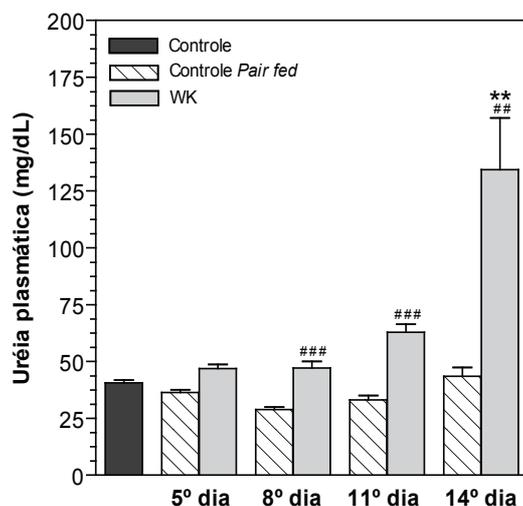


Figura 6 – Concentrações de uréia plasmática de ratos controle, controle pair fed e portadores de tumor Walker-256 no 5º, 8º, 11º e 14º dias após a inoculação das células tumorais. Cada barra representa a média erro padrão da média de 9 a 15 experimentos. Resultados analisados por Kruskal Wallis seguido por teste de Dunn. ** $p < 0,01$ versus controle, # # # $p < 0,01$ e # # # $p < 0,001$ versus controle pair fed.

42

d) Avaliação da glicemia

Desde as fases iniciais de desenvolvimento da caquexia, e também no grupo controle pair fed, as glicemias reduziram em relação ao grupo controle, alcançando redução de 56% no 14º dia de tumor. A queda glicêmica nos portadores de tumor teve nível de significância maior que o controle pair fed correspondente a partir do 8º dia, apresentando-se diminuída, em aproximadamente 41%, em relação a este no 14º dia após inoculação das células Walker-256 (figura 7).

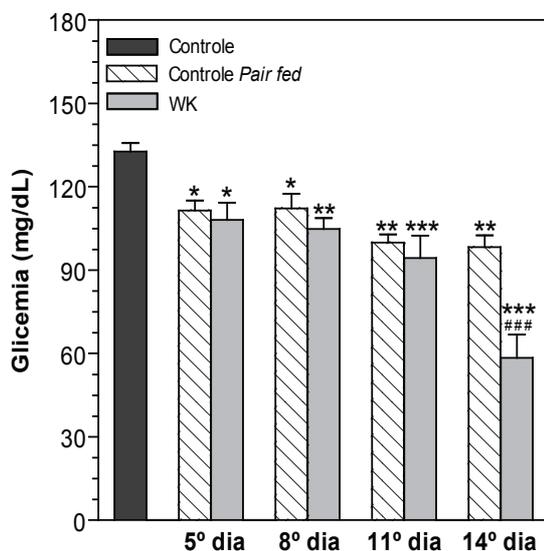


Figura 7 – Glicemia de ratos controle, controle pair fed e portadores de tumor Walker-256 no 5º, 8º, 11º e 14º dias após a inoculação das células tumorais. Cada barra representa a média erro padrão da média de 9 a 15 experimentos. Resultados analisados por ANOVA One-Way seguida de Newman-Keuls. *p<0,05, **p<0,01 e ***p<0,001 versus controle, # # #p<0,001 versus controle pair fed.

43

e) Avaliação do conteúdo de glicogênio hepático

Os animais do grupo tumor apresentaram menor conteúdo de glicogênio hepático em relação ao grupo controle, exceto no 8º dia, ainda que este apresente tendência de redução, atingindo diminuição de 94% do conteúdo de glicogênio no 14º dia de tumor. Os animais do grupo controle pair fed mostraram redução do glicogênio hepático a partir do 11º dia da restrição de ingestão alimentar, embora a tendência apareça desde ao 5º dia. Não houve diferença entre o conteúdo de glicogênio do grupo tumor e controle pair fed para todos os dias analisados (figura 8).

R
E
V
I
S
T
A

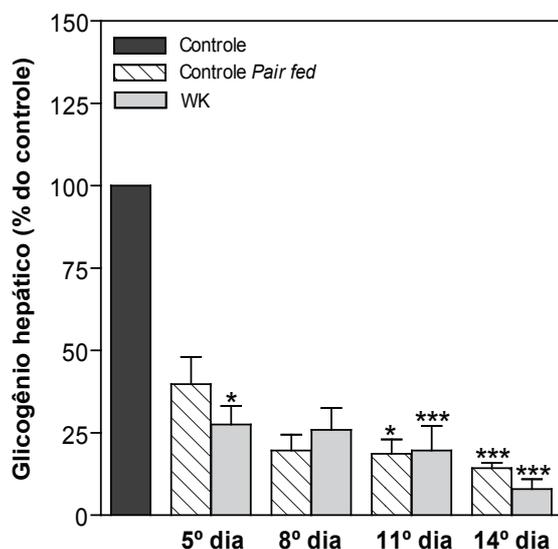


Figura 8 – Percentagem de conteúdo de glicogênio hepático em relação ao controle de ratos controle pair fed e portadores de tumor Walker-256 no 5º, 8º, 11º e 14º dias após a inoculação das células tumorais. Cada barra representa a média erro padrão da média de 5 a 20 experimentos. Resultados analisados por Kruskal Wallis seguido por teste de Dunn. * $p < 0,05$ e *** $p < 0,001$ versus controle.

44

A redução da massa muscular esquelética pode ter sido decorrente da elevada degradação e/ou da reduzida síntese protéica (TISDALE, 1997, 1999, 2000) e/ou da apoptose celular (ARGILÉS et al., 2005), promovidas por citocinas (TNF- α , IL-6, IL-1 e INF- γ) e outros fatores como o PIF (KOTLER, 2000; LOBERG et al., 2007). Diversos estudos têm demonstrado que as citocinas e o PIF induzem a ativação de vias proteolíticas, principalmente da via ubiquitina-proteassoma (TISDALE, 2001, 2002, 2003) e que o PIF (TISDALE, 2000, 2001) e toxormônios (RUBIN, 2003) produzidos pelo tumor reduzem a síntese protéica muscular esquelética.

A perda de massa corpórea, na ausência de redução da ingestão alimentar, durante o início do desenvolvimento tumoral e a não alteração da massa do músculo gastrocnêmio quando animais sadios são submetidos a um esquema de alimentação reduzida, semelhante aos dos animais com tumor, confirmam dados anteriores (TISDALE, 2002) de que a caquexia, associada ao câncer, pode ocorrer na ausência da anorexia, o que ressalta a importância dos mediadores da caquexia neste processo. Desta forma, a anorexia sozinha não é suficiente para explicar as complexas alterações metabólicas que ocorrem ao longo da caquexia, até mesmo a suplementação nutricional e a manipulação farmacológica do apetite são incapazes de restaurar o peso e a massa magra corpórea (TISDALE, 2002).

A perda de massa adiposa contabiliza uma grande parte da dramática perda de peso observada no câncer em humanos e em modelos animais, e o metabolismo lipídico é marcadamente alterado nesta patologia (TISDALE, 2002).

Da mesma forma que para os aminoácidos, as células tumorais são também consideradas “seqüestradoras” de glicose, o que pode resultar em hipoglicemia do hospedeiro (RUBIN, 2003).

Como puderam ser observados na figura 7, animais Walker-256 tiveram redução da glicemia desde a fase inicial do desenvolvimento tumoral de forma mais severa que os animais controle pair fed, pois apresentaram diferenças com maior nível de significância em relação ao grupo controle,

a partir do 8º dia, sendo que a glicemia foi menor que a do grupo controle pair fed no 14º dia após a inoculação das células tumorais (BRAHIMI-HORN, 2007),

Apesar de a anorexia interferir na glicemia do portador de câncer, outros fatores devem estar envolvidos na severa redução da concentração de glicose plasmática, pelo menos nos estágios mais tardios do desenvolvimento tumoral, como evidenciado pela redução da glicemia no 14º dia de tumor em relação ao grupo controle pair fed correspondente (figura 7).

A alta atividade metabólica das células tumorais em um ambiente hipóxico, conforme foi mencionado, implica a utilização da glicólise anaeróbica como principal via para produção de ATP (BRAHIMI-HORN, 2007), o que aumenta de maneira significativa o consumo de glicose, uma vez que para atingir o mesmo saldo energético, o metabolismo anaeróbico necessita de cerca de 40 vezes a quantidade de glicose utilizada sob condições aeróbicas (BONGAERTS et al., 2006). Este aumento do consumo de glicose pelo tumor é apontado como um dos responsáveis pela hipoglicemia característica da síndrome caquética associada ao câncer.

Em humanos saudáveis, a hipoglicemia provoca aumento na produção hepática de glicose, primeiro pela depleção de glicogênio hepático; posteriormente, pela neoglicogênese com o intuito de restaurar a concentração de glicose plasmática ao normal. Para tanto, a diminuição de a ingestão alimentar (anorexia), a qual promove por si só diminuição da glicemia (figura 7), pode ser importante na redução do conteúdo de glicogênio no fígado.

No presente trabalho, animais controle pair fed apresentaram redução de glicogênio hepático no 11º e 14º dias versus animais controle (figura 8), provavelmente pela estimulação da glicogenólise, consequência da queda de glicemia. Resultados semelhantes foram encontrados para os animais portadores de tumor. Esses dados e a similaridade no conteúdo de glicogênio hepático, entre os animais controle pair fed e com tumor, indicam a anorexia como principal responsável pela redução da concentração de glicogênio hepático. É importante ressaltar que a anorexia não é necessariamente o único mecanismo envolvido na depleção do glicogênio, visto que sua concentração foi menor nos ratos portadores de tumor no 5º dia versus animais controle e que houve tendência de redução no 5º e 14º dia em comparação aos animais controle pair fed correspondentes (figura 8).

Outros mecanismos que envolvem a redução do glicogênio no fígado, na caquexia induzida por câncer são: a) capacidade diminuída de captação de glicose exógena e de sua transformação em glicogênio (glicogenogênese), que pode ser decorrente em parte da menor atividade da glicoquinase, cuja atividade pode estar diminuída em função da resistência hepática à insulina, promovida pela IL-6 e b) maior tendência de liberação de glicose das reservas de glicogênio (glicogenólise), que pode ser devida à ação glicogenolítica do LMF (HIRAI et al., 1997).

CONCLUSÃO

Conclui-se que os animais portadores de tumor Walker-256 apresentaram sinais característicos da caquexia, como emagrecimento, catabolismo muscular e anorexia, e também muitas alterações metabólicas de parâmetros plasmáticos e hepáticos, algumas das quais se iniciaram já no 5º dia após a inoculação das células tumorais, e acentuaram-se no decorrer do desenvolvimento do processo caquético. Tais alterações não foram resultado da menor ingestão alimentar, pois elas não foram encontradas nos animais controle pair fed. É provável que fatores produzidos pelo tumor ou pelo hospedeiro (citocinas) em resposta à presença do tumor sejam os mediadores dessas alterações e, também, das observadas na neoglicogênese hepática.

REFERÊNCIAS

AMS, American Cancer Society. Cancer Statistics for 2008. American Cancer Society, Inc. USA, 2008.

ARGILÉS, J. M.; BUSQUETS, S.; GARCÍA-MARTÍNEZ, C.; LÓPEZ-SORIANO, F.J. Mediators involved in the cancer anorexia-cachexia syndrome: past, present, and future. *Nutrition.*, 21: 977-85, 2005.

BELT, Judith A.; NOEL, L. Diane. Nucleoside transport in Walker 256 rat carcinosarcoma and S49 mouse lymphoma cells: Differences in sensitivity to nitrobenzylthioinosine and thiol reagents. *Journal Of Biochemistry, Great Britain*, v. 232, p.681-688, 1985.

BONGAERTS, G. P. A.; VAN-HALTEREN, H. K.; VERHAGEN, C. A. M.; WAGENER, D. J. Th. Cancer cachexia demonstrates the energetic impact of gluconeogenesis in human metabolism. *Med. Hypotheses.*, 67: 1213-22, 2006.

BRAHIMI-HORN, M. C.; CHICHE, J.; POUYSSÉGUR, J. Hypoxia signalling controls metabolic demand. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 19: 223-9, 2007.

CAVALCANTI, T.C.; GREGORINI, C.C.; GUIMARÃES, F.; RETTORI, O.; VIEIRA-MATOS, A.N.. Changes in red blood cell osmotic fragility induced by total plasma and plasma fractions obtained from rats bearing progressive and regressive variants of the Walker 256 tumor. *Brazilian Journal Of Medical And Biological Research, São Paulo*, v. 36, p.887-895, 2003.

46

DORNELAS, C.A; ALMEIDA P.R.C, NASCIMENTO, G.L, LIMA E.B; MORAES, M.O. Modelo experimental do carcinossarcoma 256 de Walker em bexiga de ratos. *Acta Cir Bras. [periódico na Internet]* Jan-Fev; 21; 2006.

ELEY, Helen L.; RUSSELL, Steven T.; TISDALE, Michael J. Effect of branched-chain amino acids on muscle atrophy in cancer cachexia. *Journal Of Biochemistry, Great Britain*, v. 407, n., p.113-120, 2007.

FRIEDENREICH, C.M.; ORENSTEIN, M.R.. Physical activity and cancer prevention: etiologic evidence and biological mechanisms. *Am J Clin Nutr.* 132:3456S-3464S, 2002.

GOMES-MARCONDES, M.C.C.; HONMA, H.N.; AREAS, M.A.; CURY, L.. Effect of Walker 256 tumor growth on intestinal absorption of leucine, methionine and glucose in newly weaned and mature rats. *Brazilian Journal Of Medical And Biological Research, São Paulo*, v. 31, n. , p.1345-1348, 1998.

GUIMARÃES, F.; RETTORI, O.; VIEIRA-MATOS, A.N.; FERNANDES3, G.A.. The influence of septal lesions on sodium and water retention induced by Walker 256 tumor. *Brazilian Journal Of Medical And Biological Research, São Paulo*, v. 32, n. , p.309-317, 1999.

HIRAI, K.; ISHIKO, O.; TISDALE, M. Mechanism of depletion of liver glycogen in cancer cachexia. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 241: 49-52, 1997.

INCA, Instituto Nacional de Câncer; Ministério da Saúde. Estimativas da incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro; 2008.

KOTLER, D. P. Cachexia. *Ann. Intern. Med.*, 133(8): 622-34, 2000.

LABOMBARDI, Vincent J.; SHAW, Elliot; DISTEFANO, John F.; ZUCKER, Stanley; BECK, Gregory; BROWN, Frances. Isolation and characterization of a trypsin-like serine proteinase from the membranes of Walker 256 carcino-sarcoma cells. *Journal Of Biochemistry, Great Britain*, v. 211, p.695-700, fev. 1983.

LOBERG, R. D.; BRADLEY, D. A.; TOMLINS, S. A.; CHINNAIYAN, A. M.; PIENTA, K. J. The lethal phenotype of cancer: the molecular basis of death due to malignancy. *CA Cancer. J. Clin.*, 57: 225-241, 2007.

MOREIRA, N.X.; CURI, R.; PADOVESE, R.; MANCINI-FILHO, J.. Incorporation of dietary trans monounsaturated fatty acids into tissues of Walker 256 tumor-bearing rats. *Brazilian Journal Of Medical And Biological Research*, São Paulo, v. 34, p.501-508, 2001.

OBA-SHINJO, S.M.; BERTO, A.G.A.; PASSEROTTI, C.C.; BARBOSA, C.D.; SAMPAIO, L.O. Decorin is one of the proteoglycans expressed in Walker 256 rat mammary carcinoma. *Brazilian Journal of Medical And Biological Research*, São Paulo, v. 36, p.1079-1089, 2003.

47

RAMOS, E. J. B.; SUZUKI, S.; MARKS, D.; INUI, A.; ASAKAWA, A.; MEGUID, M. M. Cancer anorexia-cachexia syndrome: cytokines and neuropeptides. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.*, 7: 427-34, 2004.

RUBIN, H. Cancer Cachexia: its correlations and causes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 100: 5384-9, 2003.

SHAUGHNESSY, Stephen G.; LAFRENIE, Robert M.; BUCHANAN, Michael R.; PODOR, Thomas J.; ORR, F. William. Endothelial Cell Damage by Walker Carcinosarcoma Cells Is Dependent on Vitronectin Receptor-mediated Tumor Cell Adhesion. *American Journal Of Pathology, Canadá*, v. 138, n. 6, p.1535-1549, jun. 1991.

SILVA, Lúcio F.G.; FÉ, Daniel M. M.; CAVALCANTE, João L.B.G.; SOARES, Felipe S.D.; MORAES, Manoel O.; VASCONCELOS, Paulo R.L. Effects of arginine-enriched enteral nutrition on walker tumor bearing rats in the kidney. *Brazilian Journal Of Urology, Fortaleza*, v. 27, n. 2, p.178-185, abr. 2001.

SILVA, Lúcio F.G.; SOARES, F.S.D.; ANSELMO, J.N.N.; FÉ, D.M.M.; CAVALCANTE, J.L.B.G.; MORAES, M.O.; VASCONCELOS, P.R.L. Modelo de tumor experimental em rim de ratos. *Acta Cir Bras [periódico na Internet]* Jan - Fev; 17, 2002.

R
E
V
I
S
T
A

SILVA, Manuela Pacheco Nunes da. Síndrome da anorexia-caquexia em portadores de câncer. *Revista Brasileira de Cancerologia*, Maceió, v. 52, n. 1, p.59-77, 2006.

TISDALE, M. J. Biology of cachexia. *J. Natl. Cancer. Inst.*, 89(23): 1762-73, 1997.

_____. Wasting in cancer. *Am. Soc. Nutr. Sci.*, 129: 213S-6S, 1999.

_____. Metabolic abnormalities in cachexia and anorexia. *Nutr.*, 16(10): 1013-4, 2000.

_____. Cachexia in cancer patients. *Nat. Rev. Cancer.*, 2: 862-71, 2002.

_____. Pathogenesis of cancer cachexia. *J. Support. Oncol.*, 1: 159-68, 2003.

VENTRUCCI, G.; MELLO, M.A.R.; GOMES-MARCONDES, M.C.C.. Effect of a leucine-supplemented diet on body composition changes in pregnant rats bearing Walker 256 tumor. *Brazilian Journal Of Medical And Biological Research*, São Paulo, v. 34, p.333-338, 2001.

VIDO, A.A.; CAVALCANTI, T.C.; GUIMARÃES, F.; VIEIRA-MATOS, A.N.; RETTORI, O. The hemolytic component of cancer anemia: effects of osmotic and metabolic stress on the erythrocytes of rats bearing multifocal inoculations of the Walker 256 tumor. *Brazilian Journal Of Medical And Biological Research*, São Paulo, v. 33, p.815-822, 2000.

48 YANO, Claudia L; VENTRUCCI, Gislaine; FIELD, William N.; TISDALE, Michael J; GOMES-MARCONDES, Maria Cristina C.. Metabolic and morphological alterations induced by proteolysis-inducing factor from Walker tumour-bearing rats in C2C12 myotubes. *BMC Cancer*, Campinas, v. 24, n. 8, 28 jan. 2008.