

WELLINGTON LUNZ

**INTERFERÊNCIA DO TREINAMENTO EM NATAÇÃO COM
DIFERENTES INTENSIDADES NA CARCINOGENESE
EXPERIMENTAL DO CÓLON**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2006

WELLINGTON LUNZ

**INTERFERÊNCIA DO TREINAMENTO EM NATAÇÃO COM
DIFERENTES INTENSIDADES NA CARCINOGENESE
EXPERIMENTAL DO CÓLON**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 21 de julho de 2006

Prof^ª. Dr. Eveline Monteiro Cordeiro de Azeredo

Prof^ª. Dr. Rita de Cássia Gonçalves Alfenas

Prof^ª. Dr. Maria do Carmo Gouveia Peluzio
(Co-orientadora)

Prof^ª. Dr. Cristina Maria Ganns Chaves Dias
(Co-orientadora)

Prof. Dr. Antônio José Natali
(Orientador)

Dedico essa obra à minha noiva

Elaine Cristina Viana

que me incentivou a adentrar neste sonho
que financiou, em todos os sentidos, essa vivência
que assoprou fantasmas e enxugou lágrimas
que me fortaleceu quando sem força
que aguardou, embora não sem dor, meu regresso.
E assim, compreendendo que somos unidirecionados,
assevero que esta conquista
(certamente)
é tão minha quanto dela.

AGRADECIMENTOS

À minha noiva Elaine Cristina Viana, incentivadora holística dos meus sonhos, entre os quais esse projeto. A meus pais e irmãos, que têm tolerado por mais de seis anos a outra metade da dor motivada pela distância.

Aos acadêmicos Kêmeli, Luiz Henrique, Karina, Diego, Luiz Eduardo, Judson, Pedro, Marie e Rubens, que contribuíram decisivamente para a realização do extenso protocolo de exercício (nove meses). A Cyntia que, além da contribuição supracitada, participou do exaustivo processo de contagem dos focos de criptas aberrantes (FCA).

A Ana Paula Boroni Moreira, a grande amiga que (re)conheci no mestrado, com quem partilhei expectativas, trabalhos, frustrações, lágrimas e muitas alegrias. Exemplo de dedicação e envolvimento.

Ao orientador Antônio José Natali, que além da presente orientação confiou a mim duas iniciações científicas na graduação.

Ao amigo Frederico S. C. Franco, pela ajuda no sacrifício dos animais e análises da composição corporal. Mas, acima de tudo, pela disponibilidade nunca reclamada. Um trabalhador incansável.

Às minhas Co-orientadoras, professoras Maria do Carmo Gouveia Peluzio e Cristina Maria Ganns Chaves Dias que aceitaram esse desafio.

A Carina, pela ajuda na metodologia para contagem das criptas aberrantes. Ao amigo Emerson, que iniciou os trabalhos com exercício e FCA nesta instituição (UFV), e com quem permuto artigos, informações e amistosas conversas.

À funcionária Solange, pela ajuda sempre generosa nos trâmites burocráticos da instituição. Aos funcionários Ricardo, Cassiano, Geraldo, Donizete e Sebastião.

A Universidade Federal de Viçosa. A Capes, pelos fundamentais doze meses de bolsa.

Às pessoas amigas que gentilmente ajudaram no sacrifício dos animais (Monize, Angélica, André e Prof^a Céphora). Os amigos distantes (geograficamente) e novos amigos presentes que compartilharam comigo momentos extra-acadêmicos.

Enfim, a todos que me sustentaram no ombro para que eu pudesse ir mais adiante (*em analogia a uma famosa frase do genial Isaac Newton*).

ÍNDICE

RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	14
2.1 OBJETIVO GERAL.....	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3. MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO.....	15
3.2 INDUÇÃO DOS FOCOS DE CRIPTAS ABERRANTES E TUMORES COLORRETAIS	16
3.3 CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS	16
3.4 PROGRAMA DE TREINAMENTO EM NATAÇÃO.....	18
3.5 SACRIFÍCIO E COLETA DAS AMOSTRAS	18
3.6 ANÁLISES DOS MATERIAIS COLETADOS	20
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	24
4. RESULTADOS	25
4.1 GANHO DE PESO, CONSUMO E CONVERSÃO ALIMENTAR	25
4.2 COMPOSIÇÃO CORPORAL.....	27
4.3 PARÂMETROS SANGÜÍNEOS	30
4.4 FOCOS DE CRIPTAS ABERRANTES (FCA)	33
4.5 TUMORES NO INTESTINO GROSSO	44
5. DISCUSSÃO.....	52
5.1 GANHO DE PESO, CONSUMO ALIMENTAR, CONVERSÃO ALIMENTAR E COMPOSIÇÃO CORPORAL.....	52
5.2 PARÂMETROS SANGÜÍNEOS	54
5.3 FOCOS DE CRIPTAS ABERRANTES E TUMORES DO INTESTINO GROSSO	58
6. CONCLUSÕES.....	67
7. REFERÊNCIAS.....	69

RESUMO

LUNZ, Wellington. Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2006. **Interferência do treinamento em natação com diferentes intensidades na carcinogênese experimental do cólon.** Orientador: Antônio José Natali. Co-orientadoras: Cristina Maria Ganns Chaves Dias e Maria do Carmo Gouveia Peluzio.

O estudo teve como objetivos: a) quantificar, categorizar e correlacionar focos de criptas aberrantes (FCA) e tumores em ratos Wistar com carcinogênese colorretal induzida por 1,2 dimetilhidrazina (DMH); b) verificar se o exercício regular de natação afetaria, de forma dependente da intensidade, o número de FCA, número, incidência e tamanho dos tumores, a ingestão alimentar, o ganho de peso, composição corporal (gordura, proteína e água), os níveis séricos de glicose, colesterol total (CT), triacilglicerídeos (TAG), lipoproteínas de alta, baixa e muito baixa densidade (HDL, LDL e VLDL) e proteína C reativa (PCR) nos animais com carcinogênese induzida por DMH; c) verificar se o percentual de gordura (carcaça e intra-abdominal), glicose e perfil lipídico (CT, TAG, HDL, LDL e VLDL) se associariam com o número de tumores e FCA; d) verificar se a incidência de tumores alteraria os níveis de PCR. Animais ($n=52$), com 11 semanas de idade, foram subdivididos em dois grupos sedentários, com (CE $n=10$) e sem (CD $n=6$) droga, e em três grupos exercitados: sem sobrecarga (ED1 $n=12$), com sobrecarga de 2% (ED2 $n=12$) e 4% (ED3 $n=12$) do peso corporal. Animais dos grupos ED1, ED2 e ED3 foram submetidos a um programa de treinamento progressivo de natação por 5-20 min/dia, 5 dias/semana, durante 35 semanas. Todos os animais submetidos ao exercício e o grupo CE, receberam 4 doses (40 mg.kg^{-1}) de DMH nas duas primeiras semanas de experimento. Os animais tiveram acesso livre a ração comercial e água. Os resultados mostraram que a ingestão alimentar não foi estatisticamente diferente entre os grupos. O ganho de peso corporal dos animais foi significativamente maior para o grupo CD em comparação aos animais dos grupos CE, ED1, ED2 e ED3. O percentual de gordura intra-abdominal foi estatisticamente maior nos animais do grupo CD comparado aos grupos ED1 e ED3. O percentual de gordura da carcaça no grupo CD foi significativamente superior aos dos grupos CE, ED1, ED2 e ED3. O percentual de água da carcaça foi significativamente menor nos animais do grupo CD quando comparado aos grupos CE, ED1, ED2 e ED3. Não houve diferença estatística entre os grupos para o percentual de proteína da carcaça. As concentrações séricas de CT e LDL foram maiores nos animais do grupo CD, quando comparado aos demais grupos. As concentrações séricas de TAG e VLDL foram maiores no grupo CD, comparado ao grupo ED3. A concentração sérica de HDL foi maior no

grupo CD, comparado aos grupos CE, ED1 e ED3. A concentração sérica de glicose não foi estatisticamente diferente entre os grupos. Não houve diferença estatística entre os grupos CE, ED1, ED2 e ED3 para PCR. Animais com incidência de tumores (≥ 1) não apresentaram respostas diferentes para PCR, comparados com os não incidentes. Associações negativas do número de tumores e FCA com glicose e com o percentual de gordura (carcaça e intra-abdominal) foram observadas. Houve, de maneira geral, associações positivas do número de tumores com CT, HDL, LDL, VLDL e TAG, mas não foram suficientemente fortes (r ou $r_s < 0,60$) para se acreditar numa relação de causa-efeito. Associações positivas de FCA com CT, HDL, LDL, VLDL e TAG foram encontradas, mas geralmente foram associações fracas (r ou $r_s < 0,30$) ou regulares (r ou $r_s 0,30 - 0,60$). Um maior número de FCA e tumores foram encontrados nas regiões média e distal do intestino grosso. O exercício moderado (ED2) apresentou valor estatisticamente inferior de FCA para as regiões proximal e distal, para a média de FCA e para os $FCA \leq 3$, comparado ao grupo não exercitado (CE). Não houve diferença entre os grupos para $FCA > 3$. Os índices para potência, risco relativo, percentual de redução de FCA e potência de redução do tamanho de FCA, apresentaram melhores resultados para os animais do grupo ED2, seguido pelos grupos ED1 e ED3. O número, incidência e tamanho dos tumores não foram afetados pelo exercício nas intensidades estudadas. Os FCA foram, geralmente, positivamente associados aos tumores colorretais. Os resultados permitem sugerir que: 1) FCA e tumores se localizam, com maior frequência, nas regiões média e distal do intestino grosso; 2) o exercício, nas intensidades estudadas, não afeta de forma significativa o número, incidência e tamanho de tumores, a ingestão alimentar, ganho de peso, composição corporal, perfil lipídico, glicose e PCR em animais com carcinogênese colorretal induzida por DMH; 3) o exercício moderado oferece proteção contra FCA; 4) glicose e o percentual de gordura não se associam positivamente com tumores do intestino grosso; 5) o número de tumores não apresenta associação com CT, TAG, LDL, VLDL e HDL séricos de jejum; e 6) os níveis de PCR não são afetados pela incidência de tumores colorretais.

ABSTRACT

LUNZ, Wellington. Universidade Federal de Viçosa, July, 2006. **Interference of the swimming training at different intensities with experimental colon carcinogenesis.** Adviser: Antônio José Natali. Co-advisers: Cristina Maria Ganns Chaves Dias and Maria do Carmo Gouveia Peluzio.

The aims of this study were: a) to quantify, to classify and to correlate aberrant crypts foci (ACF) and tumors, in rats with 1,2-dimethylhydrazine (DMH)-induced colorectal carcinogenesis; b) to test whether swimming training at different intensities would affect the number of ACF, number, incidence and size of the tumors, food intake, body weight gain, body composition (fat, protein and water), the levels of serum glucose, total cholesterol (CT), triacylglycerides (TAG), high, low and very low density lipoproteins (HDL, LDL and VLDL) and C-reactive protein (PCR) in animals with DMH-induced carcinogenesis; c) to verify if the fat percentual (carcass and intra-abdominal), glucose and lipidic profile (CT, TAG, HDL, LDL and VLDL) would associate with the number of tumors and ACF; d) to verify if tumor incidence would affect the levels of PCR. Wistar male rats ($n=52$), 11 week old, were divided into two sedentary groups, with (CE $n=10$) and without (CD $n=6$) drug, and three exercised groups, without overload (ED1 $n=12$), with overload of 2% (ED2 $n=12$) and 4% (ED3 $n=12$) of the animal body weight. Animals from ED1, ED2 and ED3 underwent a progressive swimming training program, 5-20 min/day, 5 days/week, for 35 weeks. All exercised animals and those from CE group, received 4 DMH injections (40 mg.kg^{-1}) at the first two weeks of experiment. All animals had free access to water and commercial chow. The results showed that food intake was not statistically different between groups. The body weight gain in animals from CD group was significantly higher than in those from CE, ED1, ED2 and ED3 groups. The percentage of intra-abdominal fat was statistically higher in CD group animals as compared to ED1 and ED3 group. The carcass fat percentage in CD group was significantly higher than in CE, ED1, ED2 and ED3 groups. The water percentage in the carcass was significantly lower in animals from CD group as compared to those in CE, ED1, ED2 and ED3 groups. The carcass protein percentage was not statistically different between groups. Total cholesterol and LDL serum concentrations were higher in CD group than in CE, ED1, ED2 and ED3 groups. Triacylglycerides and VLDL serum concentrations were higher in CD group as compared to ED3 group. The serum concentration of HDL was higher in CD group as compared to CE, ED1 and ED3 groups. The serum concentration of glucose was not statistically different between groups. There was no statistic difference

among CE, ED1, ED2 and ED3 groups for PCR. Animals with tumor incidence (≥ 1) did not present statistical difference in PCR frequency as compared to those with no incidence. Negative associations of the tumor number with carcass and intra-abdominal fat percentual and glucose were observed. There were, in a general way, positive associations of the tumor number with CT, HDL, LDL, VLDL and TAG, but not sufficiently strong (r or $r_s < 0.60$). Positive associations of ACF with CT, HDL, LDL, VLDL and TAG were found, but were usually weak (r or $r_s < 0.30$) or regular (r or $r_s 0.30 - 0.60$) associations. A higher number of ACF and tumors was found in the medial and distal regions of the large intestine in all injected animals. Moderate intensity exercise (ED2) presented a lower number of ACF in the proximal and distal regions, lower mean of ACF and lower number of $ACF \leq 3$ as compared to those from CE group. There was no statistical difference between groups for the number of $ACF \geq 3$. Potency, relative risk, reduction percentual of ACF, and potency of ACF size reduction, were greater in animals from ED2, followed by ED1 and ED3 groups. The number, incidence and size of the tumors were not affected by exercise at any studied intensities. ACF number was positively associated with the number of tumors. These results suggest that: 1) ACF and tumors are located more frequently in the medial and distal regions of the large intestine; 2) exercise, at the studied intensities, do not affect the number, incidence and size of tumors, as well as food intake, body weight gain, body composition, lipidic profile, glucose and PCR in animals with DMH-induced colorectal carcinogenesis; 3) moderate intensity exercise provide protection against DMH-induced ACF; 4) The serum concentration of glucose and the fat percentage are not positively associated with the number of tumors in the large intestine; 5) the number of tumors are not associated with CT, TAG, LDL, VLDL and HDL; 6) the PCR response is not affected by the incidence of colorectal tumors.

1. INTRODUÇÃO

O câncer vem sendo considerado um conjunto de mais de 100 doenças (Louro 2000; Gibbs, 2003; INCA, 2005), que surgem de um processo evolucionário somático, envolvendo uma série de mutações ou mudanças na expressão de genes que, por sua vez, conferem posterior vantagem para o crescimento e malignidade do tumor (Gibbs, 2003; Bodmer et al., 2004).

O dano genético provocado por agentes ambientais, radiação, vírus ou herdada, tem sido sugerido como responsável pela carcinogênese. A hipótese genética, ou teoria da clonicidade tumoral, é a mais aceita para a carcinogênese. Essa teoria postula que uma massa tumoral resulta da expansão clonal de uma única célula genitora mutada. Mutações em duas classes de genes reguladores normais, os proto-oncogenes, que são promotores da proliferação e do crescimento celular, e os genes supressores de tumor, que agem na inibição do ciclo celular, seriam os responsáveis pela carcinogênese. Alterações na estrutura ou função de proto-oncogenes originam os oncogenes, ou seja, genes que sintetizam proteínas com alterações moleculares (oncoproteínas) ou hiperexpressam proteínas normais.

O c-sis, K-ras, myc, jun e fos são alguns dos principais oncogenes conhecidos (Cotti et al., 2000; Louro, 2000). Entre alguns exemplos de genes supressores de tumor estão os genes Rb, p53, *Adenomatous Polyposis Coli* (APC) e *Deleted in Colon Carcinoma* (DCC). Os genes p53, APC e DCC estão diretamente envolvidos na carcinogênese colorretal (Tomlinson et al., 1997; Montoya e Wargovich, 1997; Cotti et al., 2000; Slattery et al., 2002; Kops et al., 2005).

Entretanto, outras novas teorias para explicar a carcinogênese vêm sendo sugeridas (Gibbs, 2003). Essas novas teorias se fundamentam na aneuploidia (número inferior ou superior a 46 cromossomos), na instabilidade cromossômica, caracterizada por ganho ou perda de cromossomos, nas alterações de genes reguladores da apoptose e de genes envolvidos no reparo de DNA (Gibbs, 2003; Bodmer et al., 2004; Grady, 2004; Kops et al., 2005).

A radiação, os vírus e carcinógenos químicos são agentes que podem causar danos genéticos e induzir a transformação neoplásica nas células. Em relação à carcinogênese química, esta pode ser dividida em dois estágios: iniciação e promoção. Existem drogas capazes de agir apenas na iniciação, e outras apenas na promoção da carcinogênese. Uma droga iniciadora é capaz de promover mutações genéticas, entretanto, sem a ação de uma

droga promotora, não provoca a formação do tumor. Uma droga promotora, por outro lado, não é capaz de causar mutações no DNA. Existem drogas, entretanto, que são iniciadores e promotores concomitantemente, e por isso são chamados de “carcinógenos completos” (Cotran et al., 1996).

As drogas iniciadoras se enquadram em duas categorias: 1) compostos de ação direta, que não requerem a transformação química para evocarem a carcinogênese, ou 2) compostos de ação indireta (pró-carcinógenos), que requerem conversão metabólica *in vivo* para produzir carcinógenos (Cotran et al., 1996). A droga 1,2-dimetilhidrazina (DMH), uma das drogas mais utilizadas na carcinogênese colorretal química, se enquadra na categoria de droga “iniciadora indireta”. Essa droga tem a capacidade de promover hipermetilação do DNA das células epiteliais colônicas (Hoffman-Goetz, 2003). O azoximetano (AOM) é outra droga frequentemente usada na carcinogênese química do cólon. Este carcinógeno é um derivado da dimetilhidrazina (Corpet e Pierre, 2003). Entretanto, diferentemente da DMH, a AOM se enquadra na categoria de “iniciadora direta”, pois não precisa de conversão *in vivo* (Hoffman-Goetz, 2003).

Carcinógenos químicos têm sido úteis para o estudo da influência do exercício físico no período pós-iniciação da carcinogênese (Hoffman-Goetz, 2003), o que permite avaliar se o exercício é promotor ou protetor da carcinogênese do intestino grosso (IG).

O IG é anatomicamente dividido em ceco, cólon ascendente, cólon transverso, cólon descendente, cólon sigmóide e reto (Johnson, 2001). O corte transversal do IG permite identificar as seguintes camadas estruturais, a partir da luz do intestino: a) mucosa, a qual é constituída pelo epitélio, lâmina própria e muscular da mucosa; b) submucosa; c) muscular; e d) serosa. A superfície do IG não possui vilosidades, e é composta pelas glândulas ou criptas de Lieberkühn. As criptas de Lieberkühn são depressões revestidas por células caliciformes, células endócrinas e, em maior número, por enterócitos. As principais funções do cólon é a absorção de água e eletrólitos do quimo, e o armazenamento da matéria fecal (Guyton e Hall, 1997; Johnson, 2001). O ciclo de vida de uma célula epitelial intestinal é de cinco a seis dias (Junqueira e Carneiro, 1995; Guyton e Hall, 1997), permitindo o rápido reparo de escoriações que ocorrem na mucosa (Guyton e Hall, 1997). Por outro lado, o rápido ciclo celular do intestino o torna vulnerável a agentes que interferem com a replicação celular, e aumenta a probabilidade de alterações genéticas.

A maioria dos tumores no IG é de origem epitelial. Os adenocarcinomas, tumores malignos, são originados de células do epitélio das glândulas intestinais e representam 70% dos cânceres colorretais. O câncer colorretal (CC) pode ser classificado como: a) câncer

colorretal esporádico, que não tem origem hereditária e corresponde a, aproximadamente, 85% do total dos tumores malignos colorretais; ou b) câncer colorretal hereditário, que compreende, aproximadamente, 15% dos cânceres colorretais (Tomlinson et al., 1997; Cotti et al., 2000). É freqüente no IG a presença de tumores benignos, conhecidos como pólipos. O pólipo é uma massa tumoral que faz protrusão para dentro da luz do intestino. Geralmente tem origem dentro da mucosa (Cotran et al., 1996; Cotti et al., 2000).

O CC é um exemplo claro de como a carcinogênese ocorre em vários estágios moleculares e morfológicos (Bird 1995; Bird e Good, 2000; Bodmer et al., 2004; Grady, 2004). A Figura 1 caracteriza os estágios moleculares e morfológicos (seqüência adenoma-carcinoma) da carcinogênese colorretal. Observa-se, pela Figura 1, inativação inicial do gene APC, seguidas por hipometilação do DNA, mutação do gene ras e perda dos genes DCC e p53 (Cotran et al., 1996; Montoya e Wargovich, 1997). Esta é a ordem em que, geralmente, a carcinogênese colorretal ocorre, mas esta seqüência nem sempre é respeitada (Bodmer et al., 2004). O acúmulo de mutações se mostra, entretanto, mais importante para o aumento progressivo do tamanho, do nível de displasia e do potencial invasivo das lesões neoplásicas, do que a ordem em que elas ocorrem (Cotran et al., 1996).

O número de novos casos de CC, no Brasil, estimados para o ano de 2006 é de 11.390 e 13.970 casos para homens e mulheres, respectivamente. A incidência do CC é mais freqüente nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. O CC é o quarto tipo de câncer mais freqüente no mundo, e o segundo mais freqüente em países desenvolvidos. A sobrevida média mundial estimada é de apenas 44% (INCA, 2005). A sobrevida não é maior pelo fato do melhor tratamento ainda ser por intervenção cirúrgica. A prevenção ainda é a melhor forma de combate do CC (Montoya e Wargovich, 1997).

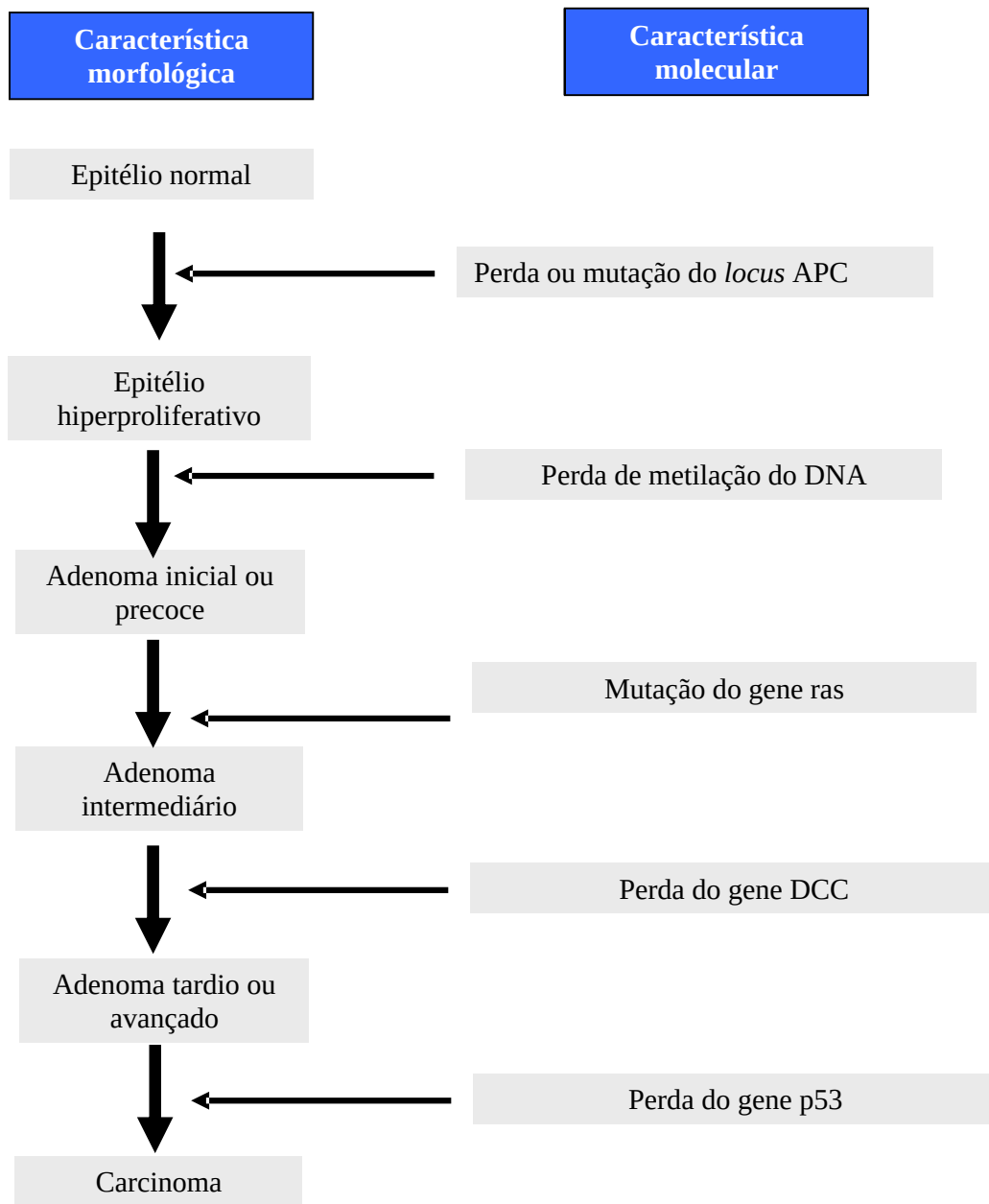


Figura 1. Estágios moleculares e morfológicos da carcinogênese colorretal (seqüência adenoma-carcinoma) (*adaptado de Cotran et al. 1996*)

Fatores como a hereditariedade, idade, obesidade, ambiente e estilo de vida estão associados ao risco de CC (Tomlinson et al., 1997; Kowalski e Nishimoto, 2003). Em relação ao estilo de vida, observou-se que a inatividade física está positivamente associada ao risco aumentado de CC (Slattery et al., 2002; Hauret et al., 2004; Tsushima et al., 2005). Por outro lado, a prática de atividade física tem sido sugerida como fator de proteção (Colditz et al., 1997; Slattery et al., 2002; Kowalski e Nishimoto, 2003).

A busca por marcadores biológicos que possam prever a incidência do CC tem motivado muitos trabalhos científicos. Atualmente, o marcador do CC mais conhecido é o antígeno carcinoembrionário (CEA). O CEA é uma glicoproteína oncofetal, que é expressa normalmente em tecidos embrionários. Entretanto, determinadas células cancerosas (ex: células cancerosas colorretais) expressam essa proteína. O CEA, apesar de poder ser medido no sangue, não apresenta valor no rastreamento populacional (Moraes et al., 2003). Além disso, o CEA é um marcador mais eficaz na monitoração da reincidência de tumores colorretais e para metástases (Moraes et al., 2003; Polycarpo et al., 2003). A avaliação de sangue nas fezes, sangue oculto, também tem sido usado como marcador na detecção de tumores localizados, mas não tem sensibilidade e especificidade suficiente para sua implantação no rastreamento populacional (INCA, 2005). Os focos de criptas aberrantes (FCA), adenomas e pólipos, também podem ser considerados marcadores do risco de CC, uma vez que podem evoluir a carcinomas, mas ainda não podem ser avaliados sem técnicas invasivas. Biomarcadores genéticos também têm sido estudados, mas ainda não apresentam potencial como marcadores clínicos do CC (Srivastava et al., 2001). Até o momento nenhum biomarcador que possa ser considerado padrão ouro foi descoberto para o CC (Corpet e Pierre, 2003).

Alguns estudos têm sugerido que a proteína C reativa (PCR), que é uma proteína sintetizada pelos hepatócitos em resposta a danos teciduais ou infecções, seja um marcador do CC. Níveis aumentados de PCR no soro (Gunter et al., 2006) e plasma (Otani et al., 2006) foram positivamente associados com o CC, mas os resultados não são consensuais (Zhang et al., 2005). Com a inflamação ou infecção severa, os níveis sanguíneos de PCR podem alcançar valores acima de 500 vezes do normal. Sabe-se que a PCR tem papel importante na ativação do sistema complemento agindo, desta forma, na fagocitose de células invasoras (Woodhouse 2002). Entretanto, no câncer, ainda não se sabe se a PCR é causa ou efeito, porém, pela facilidade de determinação da sua concentração sérica, esta proteína tem recebido grande interesse como marcador inflamatório (Santos et al., 2003).

Outros componentes encontrados na circulação sanguínea têm sido investigados para a avaliação do seu potencial como marcadores do risco de CC. Tem-se encontrado associações entre o risco de desenvolvimento do CC com os níveis aumentados de glicose (Schoen et al., 1999; Marugame et al., 2002), colesterol total (CT) (Jacobs et al., 1992; Eichholzer et al., 1999), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), de muito baixa densidade (VLDL) e de alta densidade (HDL) (Bayerdorffer et al., 1993) e triacilglicerídeos (TAG) (Yamada et al., 1998). Entretanto, os resultados não são consensuais. Além disso, em humanos, o estudo das associações destes parâmetros com o CC tem sido prejudicado por variáveis intervenientes. Por exemplo, dietas ricas em alimentos com alto índice glicêmico e gorduras saturadas, obesidade, alta ingestão alcoólica, uso contínuo de cigarros, inatividade física, doenças, entre outros fatores, interferem nos resultados. Devido a isso, o modelo experimental (ratos ou camundongos) de carcinogênese colorretal é uma alternativa para se avaliar com maior precisão as possíveis associações entre CC vs PCR, glicose, CT, LDL, VLDL, HDL e TAG. O efeito do exercício físico aeróbico, em diferentes intensidades, nos parâmetros supracitados de animais com carcinogênese experimental do cólon, ainda não é conhecido.

Entre os marcadores discutidos, os FCA vêm sendo amplamente utilizados para avaliar se determinadas intervenções (ex: exercício físico) agem na promoção ou proteção do CC (Bird, 1995). Uma população de células com expansão clonal, mas ainda sem características de malignidade, é denominada de lesão pré-neoplásica ou pré-cancerosa. Os FCA se enquadram neste conceito (Bird, 1995; Bird e Good, 2000), e representam as primeiras alterações epiteliais na seqüência adenoma-carcinoma (Montoya e Wargovich, 1997). A Figura 2 ilustra os FCA como lesões precursoras de adenomas e adenocarcinomas. O modelo proposto (Figura 2), adaptado de Bird (1995), sugere que a vantagem de crescimento seletiva para algumas lesões precursoras (FCA), em determinado momento da carcinogênese, resultaria na presença de lesões pré-cancerosas, em diferentes estágios de desenvolvimento.

O estudo dos estágios pré-cancerosos no cólon de roedores, tratados com carcinógenos específicos, tem sido possível pela identificação e enumeração dos FCA, que são específicos para a carcinogênese colorretal (Bird, 1995; Bird e Good, 2000). A metodologia que permitiu postular os FCA como lesões pré-neoplásicas envolveu exame microscópico da mucosa colônica (corada com azul de metileno) de camundongos tratados com o carcinógeno AOM. O exame revelou criptas de Lieberkuhn com morfologia aberrante apenas nos animais tratados com o carcinógeno químico (Bird, 1987). As criptas

aberrantes são reconhecidas por apresentarem aberturas luminais irregulares, sendo mais elípticas que circulares, e dilatadas. Também apresentam revestimento epitelial e zona pericriptal espessas (Bird e Good, 2000). Uma cripta aberrante é, ao menos, duas vezes maior que criptas vizinhas normais (Cheng e Lai, 2003).

As criptas aberrantes já podem ser encontradas, em toda a extensão do cólon, duas semanas após aplicação de carcinógeno químico. Inicialmente surgem como criptas isoladas e, com o tempo, FCA com mais de uma cripta por foco são observados. As novas criptas, geralmente, derivam de criptas aberrantes formadas anteriormente (Bird e Good, 2000). Assim, o número de criptas por FCA, denominado de "multiplicidade de cripta", é um parâmetro importante para avaliar a progressão dos FCA (Cheng e Lai, 2003). Entretanto, os FCA podem evoluir ou regredir em número (Bird e Good, 2000).

Estudos têm apresentado resultados que permitem acreditar que os FCA sejam lesões pré-neoplásicas. Em nível morfológico se verifica que adenomas são encontrados geralmente juntos a FCA, sugerindo um crescimento acelerado de uma ou mais criptas presentes no foco. A densidade de FCA, que é o número de FCA por centímetro quadrado da superfície da mucosa, é mais alta no sigmóide e reto, o que corresponde com o local de maior incidência de CC (Cheng e Lai, 2003). O aumento na multiplicidade das criptas aberrantes associa-se com lesões pré-neoplásicas de características avançadas, e criptas aberrantes apresentam maior atividade proliferativa que criptas normais (Bird, 1995). FCA exibem displasia e anomalias genotípicas e proliferativas comuns às encontradas no câncer de cólon (Bird, 1995). Em nível molecular, tem sido observado nos FCA elevada transcrição do ácido ribonucléico mensageiro das proteínas c-fos e ras, mutações no gene APC, no gene K-ras e aumento de p53 alteradas (Bird, 1995; Yuan et al., 2001; Cheng e Lai, 2003)

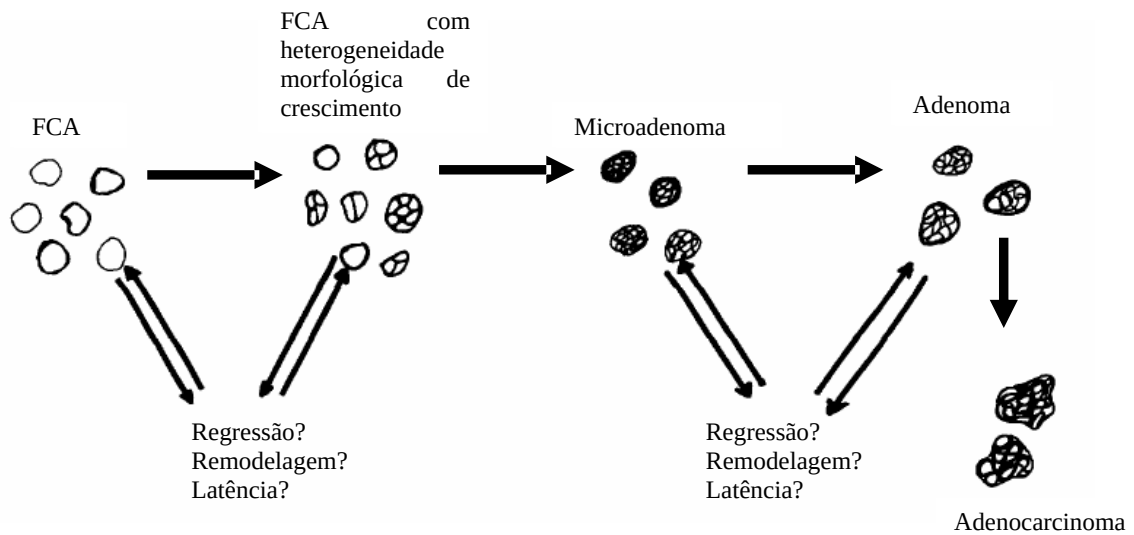


Figura 2. Focos de criptas aberrantes (FCA) como lesões precursoras de adenomas e adenocarcinomas (*Adaptado de Bird, 1995*).

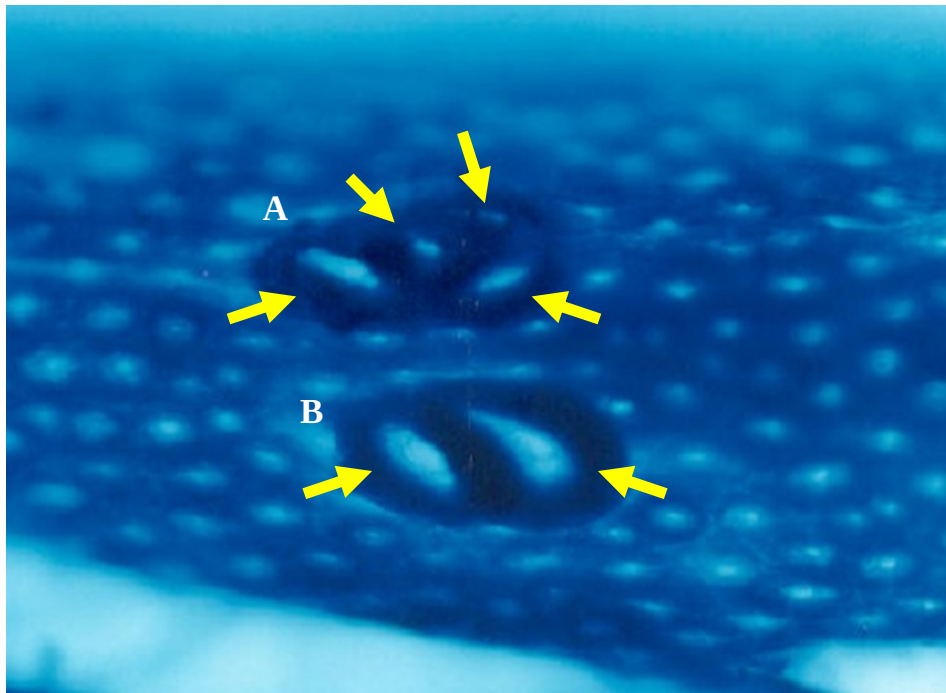


Figura 3. Focos de criptas aberrantes (FCA) observadas na superfície da mucosa colônica com microscópio óptico de luz (100X) depois de corada com azul de metileno (0,1%). Um FCA contendo quatro criptas aberrantes (A), e um FCA contendo duas criptas aberrantes (B) (Oliveira e Chaves-Dias, 2003).

Anteriormente à apresentação dos efeitos da atividade física (AF) e exercício físico sobre a carcinogênese colorretal, torna-se necessário conceituar essas nomenclaturas. Entende-se por AF o movimento corporal produzido pelos músculos esqueléticos, que resulta em gasto energético maior que o de repouso. E por exercício físico toda atividade física planejada, estruturada e repetitiva que objetiva a melhoria e manutenção de um ou mais componentes da aptidão física (ACSM, 2003).

Dezenas de estudos observacionais têm mostrado uma relação inversa entre AF e o risco de desenvolver CC. Em estudo prospectivo, foi observada redução de 46% no risco de câncer de cólon em mulheres que apresentavam o maior gasto energético semanal pela AF (Martinez et al., 1997). Em estudos caso-controle, observou-se que maiores níveis de AF reduziam o risco de adenomas no cólon em 40 a 50% (Hauret et al., 2004) e o risco de câncer de cólon em 40% (Hou et al., 2004), e quanto menor o nível de AF maior era o risco de câncer de cólon (Slattery et al., 2002). Colditz et al. (1997) mostraram redução do risco de CC em, aproximadamente, 50% para quem praticava maiores níveis de AF. De 51 estudos encontrados até o ano 2001 nas bases Medline e PubMed relacionando AF, exercício e câncer de cólon e reto, 43 demonstraram alta redução no risco de CC para homens e mulheres mais fisicamente ativos, com redução média do risco de 40 a 50% (Friedenreich e Orenstein, 2002). As evidências de proteção do CC pela AF são tidas como “convincentes” (Friedenreich, 2001; Friedenreich e Orenstein, 2002).

Entretanto, as limitações dos estudos observacionais não têm permitido tirar conclusões reais do efeito da AF no CC. Friedenreich (2001) e Friedenreich e Orenstein (2002) discutem que falta padronização dos métodos para avaliar a AF e sua associação com a incidência de cânceres. Parâmetros como o tipo de AF (ocupacional ou lazer), frequência, duração e intensidade da AF não têm sido mensurados de forma padronizada e, em alguns estudos, estes parâmetros não têm sido avaliados (Friedenreich e Orenstein, 2002). Além disso, a forma de obtenção dos dados é, geralmente, realizada por questionário, o que torna subjetiva a informação coletada, uma vez que dependem da memória, sinceridade e capacidade de resposta do voluntário.

A intensidade da AF, por exemplo, é geralmente estimada pelo gasto energético. O gasto energético, por sua vez, é calculado em função da duração e frequência, que são obtidas subjetivamente. O equivalente metabólico (MET), taxa metabólica de uma pessoa em repouso que é igual a 3,5 ml O₂/kg/min ou 1 kcal/kg/hora para um adulto de 70 kg, tem sido usado para estimar o gasto energético da AF nos estudos observacionais (Martinez et al., 1997; Hauret et al., 2004). Quanto mais duradoura e/ou intensa uma atividade maior

será o MET, o que tem justificado seu uso. No estudo prospectivo de Martinez et al. (1997), em que os dados sobre a AF foram auto-reportados, a intensidade da atividade foi estimada pela quantidade de tempo gasto em atividades de baixa, moderada e alta intensidade, as quais corresponderam a <3, 3-6 e >6 METs-horas por semana, respectivamente. No estudo de Hou et al. (2004), os pontos de corte para AF de lazer de baixa, moderada e alta intensidade, foram <9,2, 9,2–13,6 e >13,6 MET-horas por semana, respectivamente. Ou seja, para atividades de mesma “intensidade” os estudos estabeleceram valores muito diferentes de METs. Além disso, no estudo de Martinez et al. (1997), o maior gasto energético foi de 21 MET-horas por semana em AF de lazer. Por outro lado, no estudo de Hou et al. (2004), o ponto de corte para níveis de AF comunitária, considerado baixo, médio e alto foi <48,3, 48,3–94,3, e >94,3 MET-horas por semana, respectivamente. Ou seja, o menor gasto energético semanal deste último estudo poderia ser até duas vezes superior ao maior gasto energético semanal dos participantes do estudo de Martinez et al. (1997).

Os estudos supracitados permitem avaliar a subjetividade da informação sobre intensidade da AF e constatar as ausências de medidas exatas na mensuração da intensidade e de padronização nos pontos de corte para intensidade da AF.

Além disso, acredita-se que a AF possa ter efeito diferente sobre o organismo dependendo, entre outros fatores, do sexo, idade, raça, ingestão energética e peso corporal (Friedenreich, 2001). Os estudos observacionais também não têm conseguido responder se existe diferença na proteção do câncer para diferentes tipos de AF (ex: natação e corridas) (Colditz et al., 1997). Outra questão importante refere-se às variáveis intervenientes em estudos observacionais envolvendo AF. Praticantes de AF apresentam, geralmente, melhores hábitos alimentares e comportamentais (Simon, 1992; Martinez et al., 1997). Embora técnicas estatísticas permitam isolar os efeitos da AF dos efeitos de variáveis intervenientes (Simon, 1992; Colditz et al., 1997; Friedenreich e Orenstein, 2002), não se pode afastar a possibilidade de que determinados hábitos dos subgrupos que praticam AF possam contribuir para a proteção do CC (Friedenreich e Orenstein, 2002).

A partir desses questionamentos, compreende-se que os estudos intervencionais são fundamentais para que progressos adicionais sejam conseguidos nesta área do conhecimento (Batty e Thune, 2000; Friedenreich e Orenstein, 2002). Entretanto, poucos estudos experimentais têm avaliado o efeito do exercício físico sobre a carcinogênese colorretal. Ressalta-se que, nesses estudos, ratos e camundongos são os animais mais utilizados. Algumas das razões para a escolha desses animais se devem: 1) a semelhança

da carcinogênese colorretal com a dos humanos (Colbert et al., 2003); e 2) a caracterização dos tumores e a farmacocinética da exposição de carcinógenos químicos serem bem conhecidas nesses animais (Hoffman-Goetz, 2003). Devido à baixa incidência de tumores colorretais esporádicos nesses animais, a indução de tumores, seja por carcinógenos ou manipulação genética, é necessária (Corpet e Pierre, 2003; Hoffman-Goetz, 2003). O uso de carcinógenos químicos tem sido mais comum.

Os modelos de exercício mais comumente usados são as corridas voluntária e forçada. O exercício voluntário durante 26 semanas foi capaz de reduzir a incidência de tumores (número de animais com ao menos um tumor) em ratos com carcinogênese do cólon induzida por DMH (20 mg/kg) (Andrianopoulos et al., 1987). Em outro estudo com exercício voluntário, por 38 semanas, foi observada inibição na incidência e multiplicidade (tumor/animal) de adenocarcinomas no cólon de ratos com carcinogênese induzida por AOM (15 mg/kg) (Reddy et al., 1988).

Ratos com carcinogênese induzida por AOM (15 mg/kg), submetidos ao exercício forçado em esteira, por 38 semanas (2 km/dia; 5 vezes/sem), apresentaram redução significativa no número de adenocarcinomas no cólon (Thorling et al., 1994). Um programa de treinamento com corrida forçada em esteira durante 19 semanas (20 m/min; 5 dias/sem) apresentou redução de 50% no risco de desenvolvimento dos FCA em ratos com carcinogênese colorretal induzida por DMH (Oliveira e Chaves-Dias, 2003). Camundongos conhecidos como *APC^{min} mouse* ou *Min mouse* (MIN - *multiple intestinal neoplasia*) também têm sido submetidos ao exercício de corrida forçada em esteira. Esses animais têm alteração genética no gene APC, o que permite o desenvolvimento de múltiplos adenomas intestinais. Observou-se em camundongos *APC^{min}* exercitados progressivamente (10-21 m/min, 15-60 min/dia, 5 dias/sem) durante 7 semanas apenas uma tendência para um menor número de pólipos no cólon (Colbert et al., 2000). Em estudo posterior, camundongos *APC^{min}* foram submetidos a 8 semanas de exercício misto (roda livre e esteira), mas nenhum efeito do exercício sobre o número de pólipos foi observado (Colbert et al., 2003). Usando o mesmo modelo animal, o exercício moderado em esteira (18 m/min; 60 min/dia; 6 dias/sem) e o exercício voluntário, ambos por 9 semanas, reduziram significativamente o número total de pólipos intestinais, mas não na região do cólon (Mehl et al., 2005).

Demarzo e Garcia (2004) submeteram ratos a uma única sessão de natação, até a exaustão, seguida da aplicação de DMH, e quinze dias após a sessão de exercício observaram aumento significativo no número de FCA. Esse resultado sugere que o

exercício de alta intensidade pode contribuir para a carcinogênese colorretal. Entretanto, nenhum estudo que tenha avaliado o efeito do exercício de natação a longo prazo, em diferentes intensidades, sobre a carcinogênese experimental do cólon foi encontrado.

Parece, portanto, que os estudos experimentais com estes modelos de exercício (roda livre, esteira e natação) não apresentam resultados consensuais quanto ao efeito protetor do exercício físico na carcinogênese colorretal induzida por carcinógenos químicos. As diferenças de resultados entre os estudos podem ser atribuídas a vários fatores como protocolo de exercício, duração do experimento, tipo de carcinógeno usado, modelo experimental (ex: manipulado geneticamente), via de administração da droga, linhagem de ratos, dose, duração e frequência de administração da droga. Mais estudos experimentais envolvendo exercício físico, modelos animais e carcinogênese são necessários para permitir que possíveis mecanismos biológicos sejam encontrados (Hoffman-Goetz, 2003).

A partir dos resultados obtidos de estudos experimentais e, principalmente, de estudos observacionais, vários mecanismos envolvidos na prevenção do CC pelo exercício e AF têm sido sugeridos (Colditz et al., 1997; Friedenreich, 2001; Friedenreich e Orenstein, 2002; Westerlind, 2003).

Sugere-se que o exercício e AF protejam contra a carcinogênese colorretal por: a) reduzir a concentração de insulina e fatores de crescimento semelhantes à insulina, os quais são fatores de crescimento para células da mucosa colônica (Colditz et al., 1997; Friedenreich, 2001; Westerlind 2003), embora não haja consenso (Colbert et al., 2003; Nemet et al., 2004); b) aumentar a motilidade do IG, reduzindo o tempo de trânsito gastrointestinal e, conseqüentemente, o tempo de exposição da mucosa à carcinógenos (Colditz et al., 1997; Batty e Thune, 2000; Friedenreich, 2001); c) diminuir a razão entre prostaglandinas E_2 e F_2 (PGE_2 / PGF_2), aparentemente por aumentar os níveis de prostaglandinas F_2 (Colditz et al., 1997). As prostaglandinas E_2 suprimem células NK (Mazzeo, 1994), agem na proliferação de células colônicas, têm ação anti-apoptótica, ação inflamatória e agem na redução da motilidade intestinal (Colditz et al., 1997). As prostaglandinas F_2 possuem ações contrárias as PGE (Colditz et al., 1997); d) aumentar o gasto energético, produzindo um balanço energético negativo e, desta forma, protegendo contra o CC (Kritchevsky, 1990; Westerlind, 2003; Hauret et al., 2004), possivelmente pelo fato do balanço energético negativo promover redução do peso corporal (Kritchevsky, 1990); e) melhorar a função imunológica (Hoffman-Goetz, 1994; Mazzeo, 1994; Woods e Davis, 1994; Friedenreich, 2001; Westerlind, 2003). A imunossupressão é positivamente

associada ao CC (Friedenreich, 2001; Westerlind, 2003). Ressalta-se, entretanto, que o exercício intenso suprime o sistema imune (Mazzeo, 1994; Woods e Davis, 1994); f) melhorar o sistema enzimático de defesa antioxidante (Powers et al., 1998; Navarro et al., 2004), reduzindo o excesso de radicais livres, os quais poderiam causar danos potenciais ao DNA (Westerlind, 2003). O exercício exaustivo, entretanto, pode aumentar a produção de radicais livres (Schneider e Oliveira, 2004); e g) reduzir a obesidade. A obesidade está positivamente associada com o CC e com vários outros tipos de cânceres (The Cancer Council Australia, 2004; Mctiernan, 2003). Acredita-se que a massa de gordura abdominal, por promover resistência insulínica e hiperinsulinemia, esteja implicada em maior grau na carcinogênese (Colditz et al., 1997; Friedenreich, 2001; Westerlind, 2003). Entretanto, alguns estudos sugerem que a proteção contra o CC ocorra por mecanismos independentes do controle do peso corporal (Batty e Thune, 2000; Westerlind, 2003; The Cancer Council Australia, 2004). Estudos experimentais que tenham avaliado se o efeito protetor do exercício físico contra o CC seja pela modulação do peso ou da gordura corporal não têm sido encontrados.