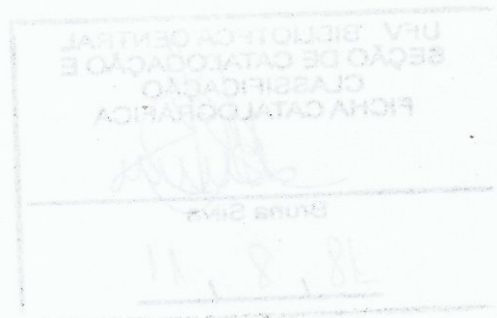


JULIANA SILVEIRA DE FREITAS

**EFEITOS DO TREINAMENTO PRÉVIO EM NATAÇÃO SOBRE A
CARCINOGENESE EXPERIMENTAL DO CÓLON EM RATOS WISTAR**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2011



**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

F866e
2011

Freitas, Juliana Silveira, 1982-

Efeitos do treinamento prévio em natação sobre a
carcinogênese experimental do cólon em ratos Wistar /
Juliana Silveira Freitas. – Viçosa, MG, 2011.
xiii, 61f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Antônio José Natali.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f. 53-61

1. Exercícios físicos. 2. Câncer. 3. Intestinos.
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

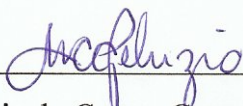
CDD 22. ed. 612.044

JULIANA SILVEIRA DE FREITAS

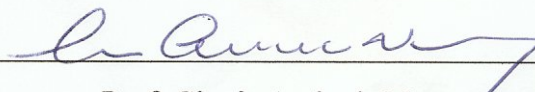
**EFEITOS DO TREINAMENTO PRÉVIO EM NATAÇÃO SOBRE A
CARCINOGENESE EXPERIMENTAL DO CÓLON EM RATOS *WISTAR***

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

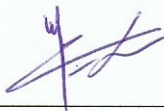
APROVADA: 20 de maio de 2011.



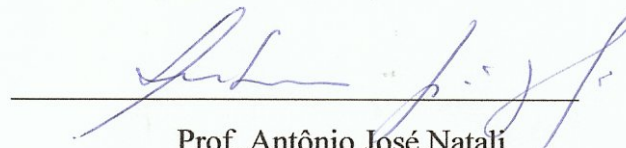
Prof. Maria do Carmo Gouveia Peluzio
(Coorientadora)



Prof. Clovis Andrade Neves
(Coorientador)



Prof. Wellington Lunz



Prof. Antônio José Natali
(Orientador)

Para os meus pais, Francisco e Maria,
com toda minha gratidão e todo meu amor.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me fortalecer, conduzir meus caminhos e dar-me sabedoria e paciência.

Aos meus pais, Maria e Francisco, pelo amor incondicional, pelos exemplos de honestidade e bondade.

Aos meus irmãos Jaqueline, João Paulo e Júlio César, pela amizade, pelo companheirismo e pelo amor.

À minha sobrinha Clarice, toda minha ternura e afeto! Obrigada por alegrar meus dias e por me fazer perceber a renovação do amor a cada dia. Você ocupa um lugar todo especial no meu coração!

Ao Du, pela sempre boa companhia, por toda paciência e todo cuidado, carinho e amor!

À vovó Zizi, por toda herança de fé. Com certeza, hoje tenho uma aliança com o céu!

Ao vovô Joaquim, pelo exemplo de luta, garra e dignidade. À vovó Eufrásia, pelas constantes orações.

A todos os meus familiares, pela torcida.

Ao professor e orientador Antônio José Natali, pela oportunidade, pelo exemplo de conduta profissional, ética e competência.

À professora Maria do Carmo Gouveia Peluzio, pela coorientação, por ser sempre atenciosa e por ceder seu laboratório para a realização de algumas análises.

Ao professor Clovis Andrade Neves, pela coorientação e pela impecável forma como sempre me recebeu em sua sala.

Ao professor Carlos Henrique Osório Silva, meu coorientador, pela atenção e pelo tempo dedicado a este trabalho.

Ao professor Wellington Lunz, por ter aceitado meu convite para participação da banca.

À amiga Bárbara, companheira, amiga, irmã, que cuidou de mim com dengue, pessoa com quem aprendo todos os dias que a vida pode ser sempre feliz e a qual admiro cada vez mais.

À madrinha Lúcia, que desde sempre acreditou em mim e sempre soube que minha vida seguiria este caminho.

À Soninha, que tantas vezes me acolheu em sua casa, onde eu tantas vezes busquei refúgio e aconchego de casa de mãe.

Às amigas de BH, Iara, Paty, Raquel, que torceram e torcem a distância pela minha vitória e sucesso.

Às amigas de Piumhi, Juliana e Fabiana, fraternidade eterna.

Às irmãzinhas de república, Cassi e Paula, por tantos momentos de alegria e descontração, nesses 11 anos de amizade.

Ao Felipe Belfort, bolsista de iniciação científica, por tantos momentos de trabalho; foi companheiro, confidente, amigo.

Ao grupo do Laboratório de Biologia Estrutural; ao funcionário Alex, por ser tão prestativo. Ao professor Sérgio da Mata, pelas agradáveis conversas e sugestões, e à amiga Arlete, pela ajuda fundamental nas análises histológicas.

Ao grupo do Laboratório de Bioquímica Nutricional, que abriu as portas para que eu pudesse realizar algumas análises; ao funcionário Toninho, e, em especial, à amiga Cynthia, pela ajuda na contagem de criptas e análises bioquímicas.

Aos queridos amigos do Biotério de Experimentação Animal: Lucas, Victor, Filipe, Matheus, Miguel, Mayra, Regiane, Nathália, Ângela, Aurora, Karina, Judson, Pedro, Marcinha, Bruno e Luiz.

Aos funcionários do Departamento de Educação Física, sempre tão atenciosos e prestativos: Maysa, Milton, Jackson, José Francisco, Rita, Rômulo.

À CAPES, pela concessão dos 12 meses de bolsa.

A todos aqueles que contribuíram para realização deste trabalho e concretização deste sonho.

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1 Câncer.....	5
3.2 Câncer de cólon.....	6
3.3 Aspectos epidemiológicos.....	9
3.4 Focos de Criptas Aberrantes.....	10
3.5 Agente carcinogênico e modelos animais.....	12
3.6 Câncer colorretal e exercício.....	14
3.7 Estresse oxidativo.....	21
3.8 Sistema imune.....	26
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
4.1 Aspectos éticos.....	31
4.2 Animais de experimentação e desenho experimental.....	31
4.3 Protocolo de exercício físico.....	33

4.4 Indução de lesões pré-neoplásicas na mucosa colônica.....	34
4.5 Coleta das Amostras.....	35
4.6 Quantificação e categorização das lesões pré-cancerosas.....	35
4.7 Análise quantitativa de linfócitos e outras células inflamatórias.....	35
4.8 Análise histomorfométrica das criptas.....	37
4.9 Determinação da atividade de enzimas antioxidantes.....	38
4.10 Análise Estatística.....	38
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
5.1 Peso Corporal.....	40
5.2 Eficiência do programa de exercício.....	42
5.3 Focos de Criptas Aberrantes.....	43
5.4 Enzimas antioxidantes.....	46
5.5 Histomorfometria das criptas intestinais.....	48
5.6 Linfócitos e células inflamatórias.....	49
6.0 CONCLUSÃO.....	52
7.0 REFERÊNCIAS	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C – graus Celsius
ad libitum- do latim, à vontade
ANOVA – análise de variância
AOM – azoximetano
APC – gene da polipose adenomatosa colônica
bpm – batimento por minuto
C – grupo controle
CAT – catalase
CC – câncer de cólon
CD – grupo controle e DMH
cm – centímetros
COX-2 – ciclooxigenase 2
d/sem – dias por semana
DMH – 1,2-dimetilhidrazina
DNA – ácido desoxirribonucleico
DP – desvio-padrão
E – grupo exercício
ED – grupo exercício e DMH
EDTA - etilenodiaminotetra cético
ERO – espécie reativa de oxigênio
FC – frequência cardíaca
FCA – foco de cripta aberrante

FCmax – frequência cardíaca máxima
FCR - frequência cardíaca de repouso
GPX – glutathione peroxidase
GR – glutathione reductase
GSH – glutathione reduzida
h – hora
HE – hematoxilina eosina
IFN- γ – interferon gama
IgA – imunoglobulina A
IL-5 – interleucina 5
IL-6 – interleucina 6
INCA – Instituto Nacional de Câncer
iNOS – óxido nítrico sintase induzível
m/min – metros por minuto
MAM - metilazoximetanol
MET – equivalente metabólico
mg/Kg – miligrama por quilograma
min – minuto
mM – milimolar
NaCl – cloreto de sódio
NK – células natural *killer*
nm – nanômetro
OMS - Organização Mundial de Saúde
PC – peso corporal
PGE – prostaglandina E
RM – repetição máxima
SOD – superóxido dismutase
TGF- β – fator de crescimento transformante-beta
U/mg⁻¹ – unidade por miligrama
V_{O2max} – consumo máximo de oxigênio
vs – *versus*
 μ m – micrômetro

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Representação das alterações morfológicas e moleculares na sequência adenoma-carcinoma do câncer colorretal, apontando mutações e alterações genéticas.....	9
Figura 2- Foco de cripta aberrante (FCA) com quatro criptas aberrantes observadas na superfície da mucosa colônica, com microscópio óptico de luz (100X), depois de corada com azul de metileno (0,1%).....	11
Figura 3- Delineamento experimental.....	33
Figura 4- Fotomicrografia de seção histológica do cólon medial do intestino grosso representativa de contagem de linfócitos e outras células inflamatórias (eosinófilos/neutrófilos).....	37
Figura 5- Fotomicrografia das criptas intestinais do cólon medial de ratos Wistar representativas de comprimento e largura.....	38
Figura 6- Modelos de regressão ajustados para descrever a variabilidade dos pesos médios dos diferentes grupos experimentais avaliados em 13 semanas.....	40
Figura 7- Fotomicrografia de secções histológicas do cólon medial do intestino grosso dos animais submetidos ao período experimental.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Frequência cardíaca de repouso dos animais dos diferentes grupos experimentais antes e ao final de 13 semanas de experimento.....	42
Tabela 2. Focos de criptas aberrantes totais, independentes das regiões do intestino grosso dos grupos experimentais.....	43
Tabela 3- Número de focos de criptas aberrantes nas regiões proximal, medial e distal do cólon do intestino grosso dos grupos experimentais, submetido ao período experimental.....	44
Tabela 4- Número de focos de criptas aberrantes independentemente das regiões do intestino grosso dos grupos experimentais.....	45
Tabela 5- Atividade enzimática da superóxido dismutase e catalase obtidas de amostras de fígado de animais dos grupos experimentais, ao final do período experimental.....	46
Tabela 6- Morfometria da região medial do cólon de animais dos grupos experimentais ao final do período experimental.....	48
Tabela 7- Número de linfócitos e outras células inflamatórias (eosinófilos/neutrófilos) na região medial do cólon de animais dos grupos experimentais.....	49

RESUMO

FREITAS, Juliana Silveira de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2011. **Efeitos do treinamento prévio em natação sobre a carcinogênese experimental do cólon em ratos Wistar.** Orientador: Antônio José Natali. Coorientadores: Maria do Carmo Gouveia Peluzio, Clovis Andrade Neves e Carlos Henrique Osório Silva.

Este estudo teve como objetivo investigar a influência dos efeitos do treinamento prévio de natação em relação ao processo de carcinogênese experimental do cólon, induzida por 1,2 dimetilhidrazina em ratos. Alocaram-se ratos Wistar com cinco semanas de idade aleatoriamente em quatro grupos: controle (C); controle + DMH (CD); exercício + DMH (ED); e exercício (E). Os animais foram alojados em gaiolas coletivas (cinco animais por gaiola), em sala com temperatura ambiente de 22 ± 2 °C e ciclo invertido de 12 horas claro/escuro, onde receberam diariamente ração e água *ad libitum*. Os animais dos grupos ED e E foram submetidos a um programa de treinamento em natação, durante oito semanas (30 min/dia, 5 dias/semana e sobrecarga de até 6% PC). Nas duas semanas seguintes, os animais dos grupos CD e ED receberam duas injeções de DMH, por semana, na dose de 40mg/kg de peso corporal, com intervalo de dois dias entre as injeções. Após a eutanásia, na 13ª semana, o intestino foi removido para avaliação de focos de criptas aberrantes (FCA), análise histomorfométrica e contagem de células inflamatórias. O fígado foi retirado para determinação de enzimas antioxidantes catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD). Os resultados evidenciaram que os animais do grupo ED apresentaram menos FCA na região proximal que os do grupo CD ($6,66 \pm 2,88$ vs $36,66 \pm 26,53$, respectivamente). Nenhuma diferença foi encontrada entre os grupos na contagem total de FCA, independentemente de regiões. O número de $FCA \leq 3$ foi maior que o de $FCA > 3$, nos

grupos ED ($86,33 \pm 46,71$ vs $6,00 \pm 3,00$, respectivamente) e CD ($97,33 \pm 43,31$ vs $5,33 \pm 4,50$, respectivamente). Não houve alteração nas enzimas antioxidantes no fígado dos animais; bem como na diferença do comprimento e da largura das criptas intestinais entre os grupos. A contagem de células inflamatórias no grupo ED foi maior que a do grupo CD ($518,20 \pm 114,44$ vs $317,60 \pm 46,33$, respectivamente). Concluiu-se que o exercício de natação antes da indução de carcinogênese do cólon em ratos preveniu o aumento do número de FCA na região proximal do intestino; entretanto, aumentou o número de células inflamatórias (eosinófilos/neutrófilos), o que sugere o efeito protetor do exercício contra a carcinogênese experimental do cólon nesses animais.

ABSTRACT

FREITAS, Juliana Silveira de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, may, 2011. **Effects of prior swimming training on experimental colon carcinogenesis in Wistar rats.** Adviser: Antônio José Natali. Co-advisers: Maria do Carmo Gouveia Peluzio, Clóvis Andrade Neves and Carlos Henrique Osório Silva.

This study aimed to investigate the effects of prior swimming training prior on the process of experimental colon carcinogenesis induced by 1,2 dimethylhydrazine (DMH) in rats. Wistar rats with 5 weeks of age were randomly divided into 4 groups: control (C) Control + DMH (CD), exercise + DMH (ED), and exercise (E). The animals were housed in collective cages in a room with temperature of $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ and light/dark cycle of 12 hours, where they received food and water ad libitum. Animals from E and ED groups were subjected to a swimming training program (30 min/day, 5 days/week, overload of 6% of body weight) for 8 weeks. In the following two weeks rats from CD and ED groups received two injections of DMH/week, with two days interval between injections. In the following week, after euthanasia the intestine was removed for assessment of aberrant crypt foci (ACF), histomorphometric analysis and counting of inflammatory cells. The liver was removed for determination of antioxidant enzymes catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD). The results show that animals of ED group had lower number of ACF in the proximal intestine as compared to CD ($6,66 \pm 2,88$ vs $36,66 \pm 26,53$, respectively). No differences between groups were found for the total number of ACF, independent of regions. The number of $\text{ACF} \leq 3$ was higher than that of $\text{ACF} > 3$ in ED ($86,33 \pm 46,71$ vs $6,00 \pm 3,00$ respectively) and CD ($97,33 \pm 43,31$ vs $5,33 \pm 4,50$ respectively) groups. There was no change in antioxidant enzymes in the animals' liver. No differences between groups were found for crypt length and width. Inflammatory cell count was higher in ED than in CD group ($518,20 \pm 114,44$ vs $317,60$

$\pm 46,33$, respectively). It was concluded that swimming training prior to the induction of colon carcinogenesis in rats reduced the number of FCA in the proximal region and increased the number of inflammatory cells (eosinophils/neutrophils). These findings suggest a protective role of exercise training against the experimental colon carcinogenesis in rats

1. INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença caracterizada por um crescimento desordenado de células que invadem tecidos e órgãos, podendo se espalhar por tecidos adjacentes (INCA, 2009). É caracterizado por um processo evolutivo, subdividido em fases: iniciação, em que se iniciam alterações genômicas, resultantes de mutações inerentes ou induzidas por carcinógeno; promoção, caracterizada por expansão clonal de células mutadas; e progressão, quando ocorre perda de controle do crescimento, com metástase para tecidos vizinhos (ROGERS et al., 2008; WEINBERG, 2008). Esse processo de transformação, geralmente, surge de uma única célula normal, que sofre efeito mutagênico em seu material genético, com posterior expansão clonal, progredindo de uma lesão pré-cancerígena para tumores malignos. Essas mudanças são resultantes de interação entre fatores genéticos, agentes externos ambientais e estilo de vida (WHO, 2003; WEINBERG, 2008).

O câncer de cólon é, atualmente, umas das principais causas de morte por câncer no mundo. Segundo os últimos dados estatísticos, que foram levantados pela Organização Mundial de Saúde (OMS), no ano de 2008, mais de 7 milhões de indivíduos chegaram a óbito, em virtude de tumores malignos; desse total, 610.000 pessoas eram portadoras desse tipo de doença (IARC, 2011).

Uma proporção substancial da taxa mundial de câncer poderia ser evitada, por meio da aplicação do conhecimento existente ao controle do câncer, implementação de programas para controle do tabagismo, detecção precoce e tratamento, bem como campanhas de saúde pública e promoção da atividade física e dieta saudável. De acordo com a OMS, os exercícios físicos, se praticados com regularidade, pelo menos 150 minutos por semana, poderiam diminuir, em até 25% os

casos de tumores de cólon. Calcula-se que 31% da população mundial não pratica nenhuma atividade física (IARC, 2011).

As orientações atuais para a atividade física desenvolvidas pelo Colégio Americano de Medicina do Esporte (ACSM), para adultos saudáveis e sobreviventes de câncer, é de no mínimo 30 minutos de exercício de intensidade moderada, cinco dias por semana, para manutenção da saúde (SCHMITZ et al., 2010). O Instituto Americano para Pesquisa do Câncer (AICR) e o Fundo Mundial para Pesquisa do Câncer (WCRF) defendem que a carga de exercício para redução do risco de câncer deve ser de 60 minutos de exercício de intensidade moderada ou 30 minutos de exercício vigoroso, diariamente (WCRF/AICR, 2007).

Vários estudos controlados estão sendo realizados com exercício, a fim de buscar biomarcadores, para uma melhor compreensão do papel do exercício na etiologia e progressão do câncer (WINZER et al., 2011). Muitos são os trabalhos epidemiológicos que demonstraram a relação entre níveis de atividade física e risco de câncer de cólon, como o de Friedenreich e Orenstein (2002), que apresentou redução de até 40% a 50% na incidência de câncer de cólon em populações fisicamente ativas. Em sobreviventes com câncer de cólon engajados em atividades com gasto ≥ 18 METS/hora por semana (6 horas de caminhada/semana) obteve-se em média uma redução do risco de recorrência de 50% quando comparados com sobreviventes inativos (WINZER et al., 2011).

Estudos com modelos animais são realizados na tentativa de elucidar os mecanismos pelos quais o exercício protege no processo de carcinogênese. Os resultados apresentaram que o exercício é capaz de interferir em estágios iniciais da doença, como na diminuição do número de lesões pré-neoplásicas no cólon, quando ratos foram tratados com carcinógenos químicos (DEMARZO et al., 2004; FUKU et al., 2007; LUNZ et al., 2008; AOI et al., 2010); no entanto, uma sessão aguda de exercício exaustivo aumentou o número de lesões (DEMARZO et al., 2008). Pesquisas com treinamento em natação, com intensidade acima do limiar de lactato, prévio ao processo de carcinogênese química, que quantificassem os efeitos sobre as lesões pré-neoplásicas não foram encontradas.

Uma melhora do sistema de defesa antioxidante é obtida com o exercício crônico (DA SILVA et al., 2009; SILVA et al., 2010; FRAJACOMO, 2010), dessa forma, o exercício pode ser usado como medida de prevenção contra o câncer de cólon, por reduzir o estresse oxidativo, o que resulta em menores danos mutagênicos,

decorrentes das espécies reativas de oxigênio (EROs) ao DNA e às proteínas (ROGERS et al., 2008; AOI et al., 2010). Dentre os estudos com câncer e exercício, os resultados ainda não são consensuais, sendo encontrado aumento na expressão de enzimas como a glutathiona reduzida (GSH) (FRAJACOMO, 2010), ou nenhuma mudança na superóxido dismutase (SOD), na catalase (CAT) e na glutathiona peroxidase (GPX) (AOI et al., 2010) decorrente do exercício crônico em animais com câncer experimental. A relação entre exercício e proteção do câncer, via sistema de defesa antioxidante precisa ser melhor estabelecida.

Sistema imunológico também pode ser influenciado positivamente pelo exercício crônico na defesa anticâncer. Sabe-se que a atividade física, praticada de forma moderada e regular, se associa positivamente aos benefícios para a saúde em geral, no entanto, exercício exaustivo pode acarretar prejuízos, por uma supressão de parâmetros imunes e aumento na produção de radicais livres (NIEMAN, 1994; LU et al, 1999; DEMARZO et al., 2004). Alguns estudos têm demonstrado que cargas de treino de alta intensidade podem ser benéficas em pacientes com diagnóstico de câncer, atuando como terapia adjunta aos tratamentos de radioterapia e quimioterapia (QUIST et al., 2006; ADAMSEN et al., 2009). Em estudos experimentais, altas intensidades de treino aeróbico e anaeróbico também se relacionaram com redução do crescimento tumoral, com melhora nos parâmetros imunes, como forma de proteção ao câncer (BACURAU et al., 2007; LIMA et al., 2008); entretanto, as questões envolvendo câncer e atividade física de diferentes intensidades ainda não estão completamente respondidas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Investigar os efeitos do treinamento prévio em natação, com intensidade acima do limiar de lactato, sobre o processo de carcinogênese experimental do cólon, induzida por 1,2 dimetilhidrazina (DMH), em ratos.

2.2. Objetivos Específicos

Verificar se o treinamento prévio em natação, com intensidade acima do limiar de lactato, sobre processo de carcinogênese experimental do cólon, induzida por 1,2 dimetilhidrazina (DMH), em ratos, afeta:

A quantidade e a categoria dos focos de criptas aberrantes no cólon.

O potencial antioxidante no fígado.

A morfologia das criptas intestinais.

A quantidade de células inflamatórias na mucosa do intestino grosso (linfócitos, neutrófilos e eosinófilos).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Câncer

Câncer é um termo geral usado para um grande grupo de doenças que podem afetar qualquer parte do corpo, o que pode também ser definido como tumores malignos e neoplasias (WHO, 2003; INCA, 2009). Essas doenças têm em comum o crescimento desordenado de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se para outras regiões do corpo (WHO, 2003). O câncer é caracterizado por um processo evolutivo, subdividido em três fases: iniciação, promoção e progressão. Na primeira, principiam-se as alterações genômicas resultantes de mutações genéticas inerentes ou induzidas por carcinógeno ou espontânea. Na segunda, há uma expansão clonal dessas células associada a hiperproliferação, apoptose e remodelamento de tecido com perda do controle do crescimento celular. Durante a terceira fase, células pré-neoplásicas desenvolvem-se e invadem tecidos adjacentes, com danos adicionais, por causa da instabilidade genômica progressiva (BIRD, 1987; ROGERS et al., 2008).

A hipótese mais aceita para a carcinogênese é a teoria da clonicidade tumoral ou hipótese genética. Essa teoria postula que uma massa tumoral resulta da expansão clonal de uma única célula genitora mutada; pode-se dizer que os tumores são clonais (ROBBINS; COTRAN, 2010). 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 as responsáveis pela carcinogênese. Alterações na estrutura ou função de proto-oncogenes originam os oncogenes, genes que sintetizam proteínas com alterações moleculares (oncoproteínas) ou hiperexpressam proteínas normais. A radiação, os vírus e carcinógenos químicos são agentes que podem causar danos genéticos, induzir a

transformação neoplásica nas células e serem responsáveis pelo início da carcinogênese (ROGERS et al., 2008; ROBBINS; COTRAN, 2010).

Sabe-se que o organismo humano encontra-se exposto a múltiplos agentes carcinogênicos e que também há um papel decisivo da predisposição genética no processo da doença, levando as células a sofrerem processo de mutação. A carcinogênese pode se iniciar espontaneamente ou ser iniciada por agentes carcinogênicos; esses podem ser físicos, químicos ou biológicos. Dentre os carcinógenos físicos, a energia solar é a mais expressiva, seguida pela radiação ionizante. Muitos dos agentes químicos carcinogênicos são encontrados no ambiente humano e relacionam-se a hábitos sociais, alimentares e ocupacionais, além de estarem presentes nos componentes do tabaco, contaminantes de alimentos e água. Dentre os agentes biológicos suspeitos de promoverem a carcinogênese, estão os vírus e as bactérias (WHO, 2003; WEINBERG, 2008; INCA, 2009).

As células transformadas carregam genes mutados que funcionam como oncogenes, que nas células normais são chamados de proto-oncogenes. Entre os principais oncogenes conhecidos estão o *K-ras*, *c-sis*, *myc*, *fos* e *jun*. Os genes supressores de tumor são chamados de anticrescimento e a sua desativação ou perda de função desempenha papel determinante na patogênese do câncer, tão importante quanto a ativação de oncogenes. Entre esses genes podem-se citar *p53*, *APC* e *Rb*. Assim como células com câncer possuem sempre em seu genoma os oncogenes, a perda da função de genes supressores de tumor por mutação genética ou silenciamento também ocorre no genoma humano iniciando o processo de carcinogênese (WEINBERG, 2008).

3.2. Câncer de cólon

O intestino grosso é composto pelo ceco, cólon (ascendente, transverso, descendente e sigmoide), reto e ânus. Dentre as suas funções, estão absorção de água, reabsorção de sais e formação do bolo fecal (GUYTON; HALL, 2006). No intestino grosso, observam-se as camadas mucosa (epitélio, lâmina própria e muscular da mucosa), submucosa, muscular e serosa. A membrana mucosa é revestida por tecido epitelial colunar simples e, diferentemente do intestino delgado, não possui vilosidades. Esse revestimento intestinal constitui uma barreira contra a entrada de diversos antígenos (PALANCH; ÁLVARES, 1998).

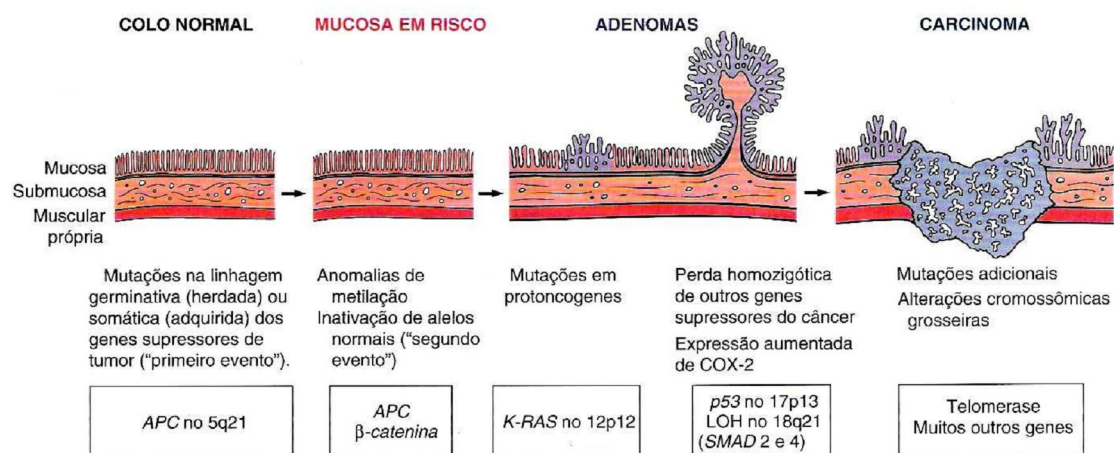
Em toda extensão da mucosa, são encontradas glândulas intestinais, ou criptas de Lieberkuhn, que são invaginações do epitélio, longas e abundantes em células caliciformes, endócrinas e absortivas. As células caliciformes localizam-se durante toda a extensão do intestino; essas produzem mucina, que é um componente do muco que protege a mucosa. Os enterócitos (células absortivas) são os mais numerosos de todos os tipos celulares, são colunares e possuem microvilosidades. As células enteroendócrinas produzem hormônios. Uma atividade mitótica intensa das células tronco, na base das criptas de Lieberkuhn, substitui continuamente o revestimento epitelial dessas criptas e da superfície da mucosa, a cada seis a sete dias. Esse ciclo de vida pequeno permite o rápido reparo de escoriações que ocorrem na mucosa; em contrapartida, esse rápido ciclo celular aumenta a vulnerabilidade do intestino contra agentes interferentes na replicação celular, aumentando a probabilidade de alterações genéticas (GUYTON; HALL, 2006). A lâmina própria preenche os espaços entre as glândulas, que contêm numerosos vasos sanguíneos e linfáticos, eosinófilos, neutrófilos, plasmócitos e linfócitos, que formam o mecanismo de defesa contra patógenos, juntamente com linfócitos intra-epiteliais, principalmente linfócitos do tipo T, que estão em íntima associação com as células epiteliais e nódulos linfoides, que se estendem até a submucosa. Aproximadamente, 90% a 95% dos tumores do intestino são derivados de células epiteliais, quase que exclusivamente do epitélio glandular (adenocarcinomas) (LUNDQVIST et al., 1996).

A carcinogênese colorretal é um processo complexo de várias etapas, que incluem mudanças na histomorfologia da mucosa colônica e em níveis celular e molecular (BIRD et al., 2000; NORLIDA et al., 2010). No intestino grosso, podem ocorrer tanto neoplasias benignas (adenomas) quanto malignas (carcinomas). A sequência adenoma-carcinoma é a base para o desenvolvimento do câncer colorretal, que se origina a partir do epitélio das glândulas intestinais após acúmulo de mutações em seu material genético. A sequência adenoma-carcinoma clássica é responsável por até 80% dos tumores de cólon (ROBBINS; COTRAN, 2010). O adenocarcinoma do cólon envolve o tipo hereditário e o não hereditário. O tipo hereditário inclui a polipose adenomatosa familiar e o carcinoma colorretal hereditário não polipótico; e o não hereditário, que corresponde à maioria dos casos, se desenvolve em indivíduos sem histórico familiar. Fatores ambientais e estilo de vida, como o padrão da dieta e o nível de atividade física, alteram o risco de desenvolvimento desse câncer. A ausência de atividade física regular parece ser responsável por 13% a 14% de todos os casos de

câncer, sendo fator de risco maior que o oferecido pelo histórico familiar (HARRISS et al., 2007).

Uma série de alterações genéticas e eventos progressivos perturbam o equilíbrio fisiológico e cíclico da renovação tecidual e produção celular, passando da diferenciação até a morte celular (apoptose). Com o advento da biologia molecular, uma melhor compreensão do amplo processo da carcinogênese do cólon tem sido possível. Duas vias genéticas são descritas para esses eventos moleculares que levam ao adenocarcinoma colônico: a APC/ β -catenina, associada à clássica sequência adenoma-carcinoma; e a da instabilidade das microssatélites, associada a defeitos no reparo mismatch de DNA. De acordo com Robbins e Cotran (2010), essas vias acumulam, gradualmente, múltiplas mutações; entretanto, o modo de como ocorrem essas mutações são distintas, assim como os genes envolvidos nesse processo.

No processo neoplásico, uma mutação no gene supressor de tumor *APC* caracteriza a primeira etapa. Esse gene é um regulador negativo da β -catenina, que em condições normais promove a sua degradação. Com a perda da função da APC, a β -catenina se acumula, transloca para o núcleo e ativa a transcrição de genes que promovem a proliferação. Mutações adicionais no *K-ras* promovem crescimento e proliferação e previnem a apoptose, por ser um oncogene. Outros genes supressores de tumor acumulam mutações como *SMAD 2*, *SMAD4*, *TGF- β* e *p53*, permitindo crescimento celular desenfreado. A perda da função desses genes pode ser causada por deleções cromossômicas ou metilação. Conforme as mutações vão avançando, ocorre simultaneamente aumento da expressão de telomerase. A via de defeitos no reparo *mismatch* do DNA manifesta-se pela perda de genes que executam o reparo de erros de pareamento de bases do DNA. A partir disso, as mutações se acumulam em repetições microssatélite e afetam genes envolvidos na sobrevivência e proliferação celular, como os que codificam o receptor do TGF- β II e o da proteína pró-apoptótica BAX. O TGF- β tipo II, se mutado, acelera o crescimento celular descontrolado; a perda da função de BAX reduz a apoptose e auxilia na sobrevivência de clones geneticamente mutados.(WEINBERG, 2008; ROBBINS; COTRAN, 2010). Na figura 1, estão ilustradas as alterações morfológicas e moleculares envolvidas na sequência adenoma-carcinoma.



APC = gene supressor de tumor (adenomatous polyposis coli); 5q21 = (cromossomo); β-catenina = proteína; K-ras = oncogene; 12p12 = (cromossomo); COX-2 = cicloxigenase de classe 2; p53 = gene supressor de tumor; 17p13 = (cromossomo); LOH = perda de heterozigosidade; 18q21 = (cromossomo); SMAD2 e 4 = (genes supressores de tumor).

Figura 1- Representação das alterações morfológicas e moleculares na sequência adenoma-carcinoma do câncer colorretal, apontando mutações e alterações genéticas. Fonte: Adaptada de Robbins e Cotran (2010).

3.3. Aspectos epidemiológicos

O câncer é uma das principais causas de morte no mundo, sendo responsável por 7,6 milhões dessas, cerca de 13%, em 2008 (IARC, 2011). O câncer de cólon (CC) se destaca como um dos mais incidentes; cerca de 610.000 óbitos por câncer colorretal são estimados por ano em todo o mundo, perfazendo 8% de todas as mortes por câncer, o que o torna a quarta causa mais comum de óbitos por câncer (IARC, 2011; INCA, 2009).

O câncer de cólon e reto é o terceiro tipo mais comum dessa doença no mundo, em ambos os sexos, e o segundo mais frequente em países desenvolvidos (WHO, 2007; INCA, 2009); e sua incidência tem aumentado mais rapidamente que outros tipos de câncer nos anos recentes (AOI et al., 2010). A sobrevida para esse tipo de neoplasia é considerada boa, se for diagnosticado em estágio inicial. A sobrevida média global em cinco anos varia entre 40% e 50%. O número de casos novos de câncer de cólon e reto estimado para o Brasil, no ano de 2010, foi de 13.310, em homens, e de 14.800, em

mulheres. Esses valores corresponderam a um risco estimado de 14 casos novos, a cada 100 mil homens, e 15, para cada 100 mil mulheres (INCA, 2009).

A predisposição genética a doenças crônicas do intestino, como poliposes adenomatosas e o histórico familiar de câncer de cólon e reto são os fatores de risco mais importantes para o desenvolvimento desse tipo de neoplasia. O estilo de vida também influencia o aparecimento da doença; por exemplo, alimentação rica em gorduras animais, baixa ingestão de frutas, cereais e vegetais, consumo excessivo de álcool e tabagismo favorecem o surgimento do câncer. O aumento da idade é também propício a essa neoplasia, pois tanto a incidência quanto a mortalidade são elevadas. A prática regular de atividade física associa-se a um baixo risco de desenvolvimento de câncer de cólon e reto (WHO, 2007; INCA, 2009).

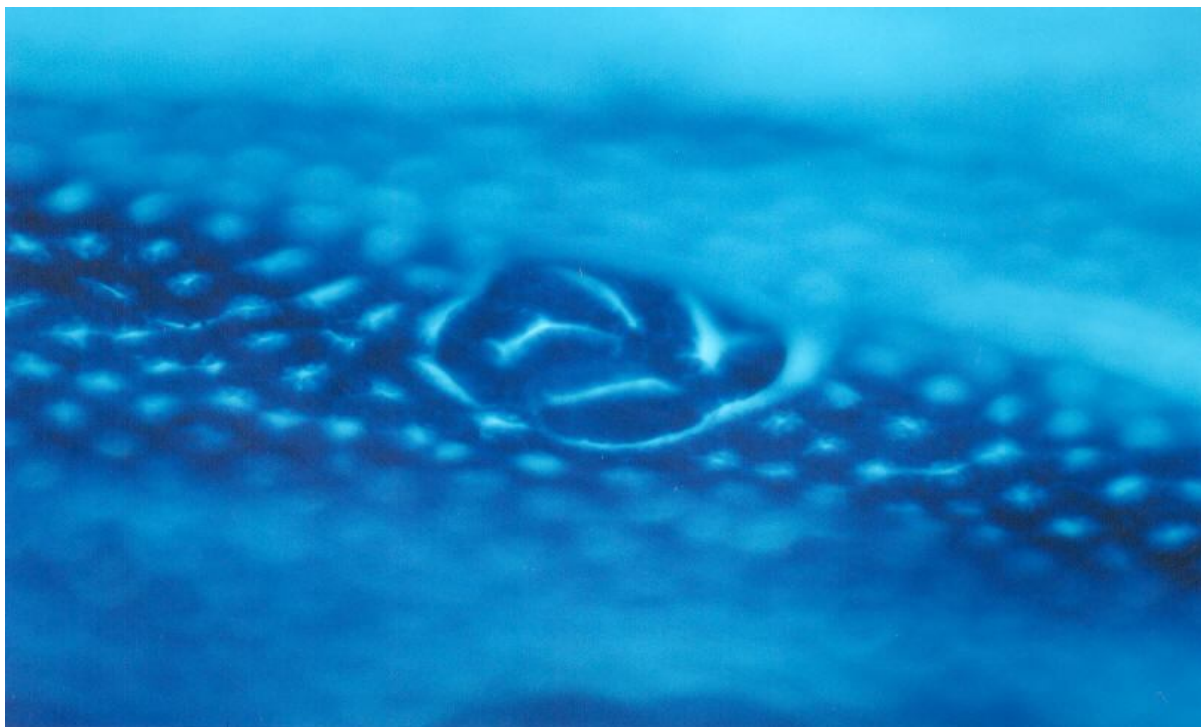
Pelo menos 60% da população mundial falha em completar a quantidade recomendada de atividade física para induzir benefícios à saúde e, além disso, a inatividade física é a principal causa para, aproximadamente, 21% a 25% dos cânceres de mama e cólon (WHO, 2003).

3.4. Focos de Criptas Aberrantes

A carcinogênese do cólon é caracterizada pelo desenvolvimento de focos de criptas aberrantes (FCA), primeiras alterações epiteliais na sequência adenoma-carcinoma experimental (BIRD, 1987). As criptas aberrantes são lesões com alterações morfológicas e moleculares características na mucosa colônica, essas apresentam displasia e proliferação anormal e podem ser consideradas lesões pré-neoplásicas (BIRD; GOOD, 2000). Os FCA podem ser observados e quantificados microscopicamente, sendo a contagem desses focos um bom biomarcador para o risco de desenvolvimento do câncer colorretal (BIRD, 1995).

As criptas aberrantes são reconhecidas por apresentarem abertura luminal dilatada e irregular, sendo mais elípticas que circulares, com camada epitelial mais espessa e corada em relação às criptas normais (BIRD; GOOD, 2000). Uma cripta aberrante é ao menos duas vezes maior que as criptas vizinhas normais (CHENG; LAI, 2003) e seu número e tamanho se correlacionam diretamente com o risco de desenvolver câncer de cólon (WARGOVICH et al., 2010). A primeira descrição dos FCAs foi desenvolvida por Bird (1987), o qual utilizou preparos microscópios da

mucosa colônica, corada com azul de metileno, de camundongos, tratados com azoximetano (AOM). O conceito de que os FCA são lesões pré-neoplásicas putativas estendeu a tradicional sequência adenoma-carcinoma da carcinogênese colorretal para a sequência “FCA-adenoma-carcinoma” (CHENG; LAI, 2003). Na figura 2, está representando um foco de cripta aberrante.



Fonte: OLIVEIRA; CHAVES-DIA, 2003.

A densidade dos FCAs (número de criptas aberrantes por cm quadrado da mucosa colônica) é significativamente mais alto no cólon distal, bem como a maior incidência de câncer de cólon em humanos no sigmoide e reto, ou seja, regiões distais do intestino. Essa associação reforça a ideia de que os FCAs se relacionam diretamente com a incidência de câncer de cólon (CHENG; LAI, 2003).

Duas semanas após a aplicação do carcinógeno DMH e AOM, as criptas aberrantes já aparecem na mucosa colônica; inicialmente, como criptas simples e, com o passar do tempo, evoluem para FCAs, contendo mais de uma cripta, ou seja, uma única cripta aberrante se expande por multiplicação ou ramificação (BIRD, 2000). A multiplicidade das criptas (número de criptas por FCA) é importante parâmetro que permite avaliar o avanço dos FCAs (CHENG; LAI, 2003). PRETLOW et al. (1992) encontraram forte correlação entre esse parâmetro e a incidência de tumor. O número de FCAs com mais de quatro criptas foi maior em ratos com tumores, comparados com

os que não desenvolveram tumores, o que pode tornar essa avaliação uma predição da incidência do câncer de cólon.

O número e o crescimento dos FCAs são influenciados por inúmeras variáveis: sexo, idade e linhagem dos animais, protocolo experimental, região do cólon analisada e principalmente a frequência que o carcinógeno é aplicado aos animais (BIRD, 2000).

Esse tipo de lesão é encontrada também na mucosa de cólon humano (TAKAYAMA et al., 1998) e foi primeiramente descrita por Pretlow et al. (1991). Os autores encontraram uma frequência muito maior de criptas aberrantes em ressecções do cólon de pacientes com câncer, em comparação com os pacientes controles, com alterações fenotípicas semelhantes às observadas nos roedores tratados com carcinógenos químicos. Os FCAs podem ser vistos até mesmo *in vivo*, utilizando a técnica de colonoscopia de aumento, realçada com azul de metileno, sendo, portanto, viável à vigilância das lesões precursoras em indivíduos de alto risco e indivíduos saudáveis, antes do início do câncer (NORLIDA et al., 2010). O estudo das lesões caracterizadas nos modelos experimentais é útil no entendimento do risco de câncer em seres humanos (ROSENBERG, 2009). Os FCAs são relevantes biomarcadores do câncer de cólon, não somente pelas evidências histológicas, mas pelas indicações celulares e moleculares, advindas do avanço em biologia molecular (WARGOVICH et al., 2010). Em relação às evidências clínicas e laboratoriais, os FCAs são potenciais indicadores de câncer de cólon em sujeitos de alto risco e na predição de risco futuro em indivíduos assintomáticos; no entanto, os indícios são ainda circunstanciais para os FCAs em humanos.

Estudos experimentais são largamente utilizados com o objetivo de detectar possíveis fatores que possam interferir nos estágios iniciais da carcinogênese colorretal, exercício físico, sendo esses promotores ou protetores no processo (BIRD, 1995).

3.5. Agente carcinogênico e modelos animais

Modelos animais proveem uma oportunidade ímpar para o estudo da biologia do processo da doença, permitindo testar hipóteses que liga fatores ambientais na etiologia e prevenção do câncer de cólon (BIRD, 2000). Modelos de câncer induzidos por 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.

Estudos do processo de carcinogênese experimental utilizam uma variedade de modelos animais. Dentre esses, podem-se citar tumores induzidos quimicamente, tumores transplantados, modelos de tumores espontâneos e camundongos transgênicos (ROGERS et al., 2008).

Há muitas vantagens em se estudar a patogênese do câncer de cólon em modelos animais induzidos por carcinógeno químico. O modelo animal mais comumente utilizado são os roedores. Em ratos, a indução do tumor é rápida e permite reproduzir a sequência adenoma-carcinoma, como ocorre em seres humanos. A elevada frequência de tumores que se desenvolve no cólon distal de ratos, e a histogênese de adenomas múltiplos, com consequente formação de adenocarcinomas, justificam a importância dessa espécie no estudo da patogênese do câncer de cólon (ROSENBERG, 2009).

Quanto aos carcinógenos químicos, esses podem agir nos estágios da iniciação e promoção. Aqueles que agem na iniciação da carcinogênese são conhecidos como iniciadores. As drogas iniciadoras são capazes de gerar mutações genéticas; no entanto, se não houver a ação de uma droga promotora, o tumor não será formado. As drogas promotoras não são capazes de causar as mutações no DNA, portanto não iniciam o processo da carcinogênese, não sendo, tumorigênicas por si próprias, mas estimulam a divisão de células mutadas. Drogas que são tanto iniciadoras quanto promotoras são conhecidas como carcinógenos completos. As substâncias químicas que podem iniciar a carcinogênese podem ser divididas em duas categorias: de ação direta e de ação indireta. Os agentes de ação direta não exigem transformação química (conversão metabólica) para se tornarem carcinogênicos; entretanto, os de ação indireta (pró-carcinógenos) requerem conversão metabólica em carcinógenos em sua forma final (ROBBINS; COTRAN, 2010).

A 1,2-dimetilhidrazina é o carcinógeno químico que mais tem sido utilizado em estudos experimentais. A DMH é um pró-carcinógeno que necessita de ativação metabólica para gerar os produtos que reagirão com o DNA, ou seja, se enquadra na categoria de iniciadora indireta. A DMH promove hipermetilação do DNA das células epiteliais colônicas. O azoximetano, que é um derivado da dimetilhidrazina se enquadra na categoria de iniciadora direta, pois não precisa de conversão *in vivo* (HOFFMAN-GOETZ, 2003).

O metabolismo desses compostos envolve múltiplas enzimas que metabolizam xenobióticos, procedendo por meio de diversos passos de N-oxidação e hidroxilação, incluindo a formação de metilazoximetanol (MAM) seguido de hidroxilação de AOM. O metabólico MAM prontamente se converte em íon metildiazônio, que pode alquilar macromoléculas no fígado e cólon, incluindo a adição de grupos metil nas posições O6 e N7 da guanina (O6-metil-desoxiguanosina e N7-metil-desoxiguanosina (ROSENBERG, 2009).

3.6. Câncer colorretal e exercício

A prevenção do câncer colorretal tem tomado dimensão importante nos campos da ciência e da saúde, uma vez que a sua ocorrência tem grande correlação com fatores relacionados ao estilo de vida. Compreender e controlar as doenças malignas requer conhecimentos científicos para avançar no entendimento dos mecanismos de regulação molecular e compreender também as escolhas individuais relativas ao estilo de vida. Dentre os fatores de risco, um com relevante importância é o sedentarismo (WHO, 2003).

A nova orientação da OMS (Recomendações Globais na Atividade Física para Saúde) detalha as diferentes intensidades e quantidades de atividade física para todos os grupos de idade que podem ajudar a reduzir as doenças não transmissíveis, incluindo alguns cânceres. O Instituto Americano para Pesquisa do Câncer (AICR) e o Fundo Mundial para Pesquisa do Câncer (WCRF) defendem que o volume diário de exercício para redução do risco de câncer deve ser 60 minutos e intensidade moderada ou 30 minutos de exercício vigoroso (WCRF/AICR, 2007). As orientações atuais, para a atividade física, recomendadas pelo Colégio Americano de Medicina do Esporte (ACSM), para adultos saudáveis e sobreviventes de câncer são as seguintes: exercícios físicos praticados com regularidade, pelo menos 150 minutos por semana, com intensidade moderada ou 75 minutos de exercício vigoroso (JONES et al., 2010; SCHMITZ et al., 2010). De acordo com o ACSM, essa recomendação para pacientes sedentários, durante ou imediatamente após a terapia citotóxica, é um objetivo em longo prazo e não é aconselhado, ou seja, deve-se levar em conta a sobrecarga progressiva, chegando a esse volume de 150 minutos, após um período de adaptação (JONES et al., 2010).

As evidências para a redução do risco de câncer com a atividade física são classificadas como convincentes para câncer de cólon e mama, prováveis para o de próstata, possíveis para o de pulmão e endométrio e insuficientes para câncer em todos os outros locais (FRIENDEREICH; ORENSTEIN, 2002; WHO, 2003; FRIENDREICH et al., 2010; WINZER et al., 2011). Vários estudos têm demonstrado uma relação inversa entre atividade física e risco de desenvolver câncer de cólon. Friendreich; Orenstein (2002) demonstraram que dentre 51 estudos relacionando atividade física e câncer colorretal, 43 apresentaram alta redução no risco de CC para homens e mulheres fisicamente ativos, com uma média de redução do risco entre 40 e 50%, sendo no mínimo de 20% e no máximo de 70% de redução. De 29 estudos que avaliaram a relação dose-resposta da atividade física, 25 confirmaram essa relação, ou seja, quanto maior o nível de atividade física maior se mostrou a redução do risco para o CC. Slattery et al. (2002) evidenciaram que quanto menor o nível de atividade física maior o risco de desenvolver CC. Friendreich et al. (2010) afirmaram que entre 9% e 19% dos cânceres que ocorrem na Europa atualmente poderiam ser atribuídos à falta de atividade física suficiente.

Com base em um estudo de caso controle populacional, avaliou-se a relação entre atividade física ocupacional e recreacional e risco de câncer em homens canadenses. Comparados aos homens com baixos níveis de atividade ocupacional, homens com altos níveis de atividade tiveram redução da probabilidade de desenvolver todos os tipos de cânceres, com a evidência mais forte para câncer de cólon e próstata. Altos níveis de atividade física ocupacional durante a vida adulta foram associados com uma redução de 20% a 40% do risco de desenvolver vários tipos de cânceres; no entanto, para os dados de atividade física recreacional os resultados foram controversos (PARENT et al., 2010).

Além desses estudos, que demonstraram que o exercício desempenha importante papel na prevenção do câncer e que ser fisicamente ativo ao longo da vida reduz o risco de câncer colorretal, outros têm apresentado um papel importante do exercício regular no gerenciamento e tratamento em indivíduos com câncer (GALVÃO; NEWTON, 2005; NEWTON; GALVÃO, 2008).

O estudo de Peel et al. (2009) examinou, em 38.801 homens (idade entre 20 e 88 anos), a associação entre mortalidade por câncer do sistema digestivo e a performance alcançada em teste máximo de esteira em um Centro de Estudos Aeróbicos

Longitudinais, em Dallas, Texas. A mortalidade foi avaliada por 29 anos (1974-2003) e a taxa ajustada por idade, para cada 10.000 pessoas por ano, foi de 6,8; 4,0; e 3,3, para pessoas com baixa, moderada e alta aptidão cardiorrespiratória, respectivamente ($p < 0,001$). Esses resultados reforçam o efeito protetor do exercício no trato digestivo.

Galvão e Newton (2005) fizeram as seguintes recomendações específicas para a maioria dos pacientes e sobreviventes de câncer: fazer exercícios aeróbicos contínuos ou intermitentes por 20 a 60 minutos, três a cinco vezes por semana a 55% a 90% da FCmax; e fazer exercícios resistidos de seis a doze repetições (50% a 85% 1RM) uma a quatro séries de cada exercício para os grandes grupos musculares de uma a três vezes por semana; e, por último, exercícios de flexibilidade para grandes grupos musculares, duas a quatro séries de cada exercício, de duas a três vezes por semana. Uma observação importante feita nesse estudo é que as intervenções de exercícios nos pacientes com câncer são bastante modestas, em termos de volume e intensidade, e, na opinião dos autores, essas variáveis são baixas e inespecíficas, havendo necessidade urgente de estudos, com diferentes modos e dosagens de prescrição de exercício em populações com diferentes tipos de câncer, a fim de obter mais informação sobre a prescrição de exercício para essa população.

Há evidências em relação aos efeitos benéficos do exercício físico na capacidade física e bem-estar psicológico em pessoas pós diagnosticadas e em tratamento para o câncer (GALVÃO; NEWTON, 2005; KNUTSEN et al., 2006). O exercício é considerado importante adjuvante na terapia para reduzir sintomas, amenizar os efeitos locais da radiação e terapias farmacêuticas, melhorar o bem-estar psicológico e aumentar a sobrevivência. Uma importância particular é a prevenção e o gerenciamento de outras doenças crônicas como diabetes tipo II e doenças cardiovasculares, que têm sido crescentemente observadas como resultado da terapia do câncer (NEWTON; GALVÃO, 2008).

Estudos epidemiológicos têm sido conduzidos com o intuito de avaliar os efeitos do exercício de alta intensidade, em pacientes com câncer (KNUTSEN et al., 2006; QUIST et al., 2006; ADAMSEN et al., 2009). Esse tipo de exercício pode ser importante componente de um tratamento complementar em pacientes submetidos à quimioterapia (QUIST et al., 2006). ADAMSEN et al. (2009) demonstraram que uma intervenção de exercício de alta intensidade pode ser seguramente empreendida em pacientes com diferentes diagnósticos de câncer e em diferentes estágios submetidos à quimioterapia.

A combinação de treino de alta intensidade, aeróbico (85% a 95% da FC_{máx}) e resistido (cinco a oito repetições, 70% a 100% de 1 RM), relaxamento e treinamento de consciência corporal como intervenção adjunta ao cuidado convencional, apresentou efeitos amplos, com melhoras significativas na fadiga, vitalidade, saúde mental, capacidade física (VO_{2max} e força muscular), atividade funcional física, bem-estar emocional. Somente o efeito na melhora da fadiga já assegura uma mudança clínica de pequena à média importância.

Com base em estudos epidemiológicos e observacionais, há forte argumento para apoiar firmemente a atividade física como componente integral nos programas de prevenção do câncer. Os estudos experimentais, especialmente com modelos animais, auxiliam no esclarecimento dos mecanismos pelos quais o exercício atua na proteção contra a doença.

Fuku et al. (2007) submeteram ratos F344 a quatro semanas de treinamento em esteira (10m/min, duas sessões de 60 min com intervalo de 10 min por dia, 5d/sem), após a indução por um carcinógeno químico (DMH). O treino de corrida de baixa intensidade em curto prazo, quatro semanas, reduziu significativamente o número de FCA.

Lunz et al. (2008) verificaram os efeitos do treinamento de natação com intensidades variadas no processo da carcinogênese colorretal. Após a indução por DMH, esses autores submeteram ratos *Wistar* ao treinamento, por 36 semanas, e relataram que o exercício crônico protegeu esses animais contra o início do desenvolvimento de FCA, sugerindo ser a intensidade moderada de exercício a mais para esse efeito protetor.

Ainda em relação à intensidade, Almeida et al. (2009) treinaram camundongos em natação, com diferentes intensidades, antes da inoculação de células cancerosas e encontraram relação inversa entre treinamento prévio e crescimento tumoral, somente na intensidade moderada, com nenhum efeito para intensidades mais altas. Silva et al. (2009) testaram os efeitos do exercício e de um produto fermentado de soja, no processo de formação de lesões pré-neoplásicas, apresentando que o probiótico não impediu a proliferação clonal e o exercício, tanto na intensidade moderada (17 a 20m/min) quanto na alta intensidade (355m/min), foi incapaz de diminuir a formação de FCA.

Um programa de corrida forçada em esteira (20m/min), por 19 semanas, causou redução de 50% no risco de desenvolver FCA, em ratos com carcinogênese induzida por

DMH (OLIVEIRA; CHAVES-DIAS, 2003). O exercício de caráter espontâneo (roda voluntária), durante 26 semanas, foi associado com redução na incidência do tumor induzido por DMH em ratos (ANDRIANOPOULOS et al., 1987). Num outro estudo com corrida voluntária, Reddy et al. (1988) submeteram os animais a um período experimental de 38 semanas, após a indução da carcinogênese do cólon por AOM. A incidência de tumor (percentual de animais com tumor) e a multiplicidade do tumor (tumor/animal) foram significativamente reduzidas pelo exercício.

Demarzo e Garcia (2004) submeteram ratos a um protocolo de natação até a exaustão, seguido por injeções de DMH, e observaram, após 15 dias, um número significativamente maior de FCA, comparado com o grupo que não exercitou. Esse resultado sugeriu que uma sessão aguda de exercício de alta intensidade contribuiu para o processo de carcinogênese colorretal. Também Demarzo et al. (2008) submeteram animais a um protocolo de treino de natação (90 minutos por sessão sem sobrecarga), por oito semanas, prévio à aplicação de DMH, e encontraram que o exercício crônico atenuou o aumento da proliferação das células epiteliais do intestino e teve efeito anti-inflamatório pela redução do marcador inflamatório COX-2.

Aoi et al. (2010) apresentaram redução significativa na formação dos FCA nos camundongos injetados com AOM e treinados em esteira (30 min/dia, 20 m/min), comparados ao seus controles sedentários. Modelos que tenham utilizado um protocolo de treinamento em natação com intensidade acima do limiar de lactato em ratos, anterior à fase de indução da carcinogênese, não foram encontrados.

O camundongo APCmin mouse tem sido bastante utilizado em pesquisas sobre o processo de carcinogênese. Esse animal possui alteração genética no gene APC, o que permite o desenvolvimento espontâneo de adenomas intestinais. Colbert et al. (2000) demonstraram tendência à redução do número de pólipos no cólon, após um período de sete semanas de treinamento em corrida progressiva (10-21 m/min, 15-60 min/dia). O mesmo grupo, em 2003, submeteu animais APCmin a oito semanas de treinamento (esteira e voluntária), mas não foi encontrado nenhum efeito do exercício sobre o número de pólipos intestinais. Colbert et al. (2006) encontraram redução significativa no número total de pólipos em camundongos que correram em roda voluntária por 10 semanas. Baltigalvis et al. (2008) apresentaram que o exercício moderado durante nove semanas reduziu o tamanho e número dos tumores em camundongos APCmin e que muitos mecanismos celulares e moleculares estão envolvidos nessa redução.

Em camundongos inoculados com tumor de *Erlich*, o treinamento em natação com sobrecarga de 50% da carga máxima obtida em teste de exaustão suprimiu o crescimento tumoral e com o aumento do regime de exercício para 80% da sobrecarga máxima não encontrou nenhum efeito sobre o desenvolvimento tumoral. Esse achado deve ser considerado e pode ter relevância clínica ao se desenvolverem intervenções envolvendo exercício físico em sobreviventes de câncer (ALMEIDA et al., 2009).

Faltam evidências experimentais sobre os efeitos do treinamento de alta intensidade em animais com câncer. Dentre os poucos encontrados, Bacurau et al. (2007) relataram que o exercício crônico de alta intensidade (85% $VO_{2máx}$) aumentou a expectativa de vida de animais injetados com tumor de *bearing*, promoveu redução da massa tumoral e preveniu indicadores de caquexia nesses animais, sugerindo que esse tipo de exercício pode ser estratégia viável contra os tumores. De Lima et al. (2008) estudaram os efeitos do exercício de salto, um protocolo caracterizado como anaeróbico, em ratos inoculados com tumor de *bearing* e observaram redução do crescimento tumoral, caquexia do câncer e aumento nas funções imunes inatas e adaptativas, em comparação aos animais controles sedentários.

Alguns fatores devem ser colocados na interpretação dos resultados, visto que alguns achados são contraditórios. As diferenças entre os diversos protocolos devem ser examinadas, como a dosagem do carcinógeno, forma de aplicação, intensidade do esforço, raça e linhagem dos animais, ingestão alimentar, enfim fatores que podem causar confusão nas interpretações dos resultados. Mais estudos devem ser tomados para auxiliar no entendimento dos mecanismos protetores da carcinogênese pela atividade física.

Alguns mecanismos biológicos são sugeridos para explicar o efeito protetor do exercício físico na carcinogênese. A carcinogênese do cólon desenvolve-se em um processo de muitas etapas e o efeito antitumor do exercício aparentemente resulta de prevenção nos estágios iniciais. Sugere-se que o exercício físico proteja contra a carcinogênese colorretal por vários mecanismos, que serão descritos a seguir.

A melhora da motilidade e a redução do tempo de trânsito gastrointestinal promovidos pelo exercício diminuem o tempo de contato da mucosa com possíveis agentes carcinogênicos (FRIEDENREICH, 2001; QUADRILÁTERO; HOFFMAN-GOETZ, 2003; LIRA et al., 2008; ROGERS et al., 2008, FRIENDREICH, 2010).

O exercício pode suprimir a carcinogênese, em associação à inibição da COX-2 e iNOS no tecido do cólon, pois essas duas enzimas estão frequentemente elevadas nos

estágios iniciais e são fatores-chave para o desenvolvimento do câncer de cólon. A elevada produção de iNOS produz excesso de óxido nítrico, gerando peroxinitrito pela sua reação com o superóxido. O peroxinitrito prejudica proteínas e DNA por nitratação, nitrosilação e oxidação, o que pode ser crítico para o início do desenvolvimento do câncer (AOI et al., 2010). A expressão da iNOS dificilmente é detectada nas células epiteliais do cólon, mas é especialmente aumentada no primeiro passo do processo de carcinogênese, correspondendo com a formação dos FCA. Uma redução da expressão de iNOS, em associação com a inibição da formação dos FCA, sugere que o exercício é estratégia efetiva para a prevenção primária da carcinogênese do cólon (AOI et al., 2010).

A carcinogênese do cólon está positivamente associada com aumento na expressão de COX-2, que leva a uma produção excessiva de prostaglandina E2 (PGE), com consequente aumento da proliferação celular. A atividade física tem sido associada a baixos níveis de PGE2 e o efeito antiproliferativo do exercício pode ser atribuído, pelo menos parcialmente à inibição da expressão de COX-2 (DEMARZO et al., 2008; AOI et al., 2010). As PGE2, além de agirem na proliferação celular, possuem ação inflamatória e antiapoptótica (COLDITZ et al., 1997). O nível de atividade física recreacional se relaciona inversamente com a concentração de prostaglandina E2 (HARDMAN, 2001).

As reduções das concentrações de insulina e dos fatores de crescimento semelhante à insulina podem ser conseguidas pela atividade física, uma melhora da sensibilidade e captação pelas células musculares. Essa redução decorrente do exercício é importante, pois a insulina pode aumentar o desenvolvimento tumoral pela estimulação da proliferação celular e inibição de apoptose. A redução da sensibilidade à insulina decorrente da inatividade física cria ambiente que promove o crescimento e facilita a neoplasia (HARDMAN, 2001; WESTERLIND, 2002; CAMPBELL; MCTIERNAN., 2007; ROGERS et al., 2008; FRIEDENREICH, 2010).

O aumento do gasto energético e a diminuição da obesidade (WESTERLIND, 2002; MCTIERNAN, 2003; CAMPBELL; MCTIERNAN, 2007; ROGERS et al., 2008; FRIEDREICH et al., 2010); no entanto, uma relação consistente entre atividade física e composição corporal e seu efeito na carcinogênese não pode ser afirmada (ROGERS et al., 2008). A redução da gordura corporal leva a um menor nível de marcadores inflamatórios e adiponectina, melhora a sensibilidade à insulina, levando a um ambiente menos propício para o crescimento tumoral (FRIEDREICH et al., 2010).

Os estudos sobre uma modulação da iniciação tumoral pelo exercício são escassos. Alguns resultados sugerem ação inibitória do exercício na ativação do carcinógeno. Em longo prazo, o exercício pode afetar a biotransformação de xenobióticos, por meio de uma melhora nas vias de destoxificação, favorecendo o sistema citocromo P450 (CYP). Há evidências de que o exercício induza aumento na atividade e no conteúdo de CYP no fígado de animais treinados em esteira, ou seja, o exercício parece melhorar o metabolismo de espécies tóxicas, por meio do citocromo p (ROGERS et al., 2008). Esses mecanismos de ativação e detoxificação podem ser muito importantes, no entanto, estudos têm sido insuficientes para avaliar sua importância relativa na associação entre câncer e exercício (FRIENDREICH et al., 2010).

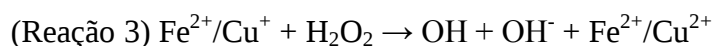
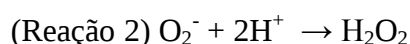
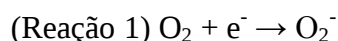
A atividade física regular e moderada melhora a função imune, tanto a imunidade inata quanto a resposta imune adquirida. Um melhor reconhecimento e eliminação das células cancerígenas e uma redução dos marcadores inflamatórios são importantes na defesa anticâncer e são resultados de um treinamento físico. Uma melhora do mecanismo de defesa antioxidante, por meio de aumento na atividade das enzimas antioxidantes também são resultantes do exercício físico crônico (ROGERS et al., 2008; FRIENDREICH et al., 2010).

3.7. Estresse oxidativo

Os radicais livres podem ser definidos como qualquer espécie química que possua um ou mais elétrons não pareados na última camada de valência, o que os torna muito instáveis e reativos (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1996). Esses são formados quando um não radical perde ou ganha um elétron. Na busca de outro elétron para voltar ao equilíbrio e estabilizar sua estrutura molecular, esses radicais reagem com outros radicais livres ou moléculas e tornam-se potentes oxidantes (OLIVEIRA, 2004; SCHNEIDER, 2004). Embora haja grande variedade de radicais livres, aqueles derivados de oxigênio e nitrogênio representam a classe mais importante; por isso, muitas vezes, referem-se a tais radicais como espécies reativas de oxigênio/espécies reativas de nitrogênio.

Durante os processos metabólicos oxidativos, o organismo utiliza o oxigênio para a produção de energia. Desse oxigênio que se respira, a grande parte consumida é reduzida à água, por meio da cadeia de transporte de elétrons, mas cerca de 2% a 5%

desse oxigênio pode sofrer uma redução univalente e formar espécies reativas de oxigênio (EROs) (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1996). Exemplos de espécies reativas de oxigênio são o ânion superóxido (O_2^-), que é formado pela adição de um elétron ao oxigênio molecular, tornando-o altamente reativo (reação 1); o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), um não radical derivado do oxigênio, mas também capaz de induzir danos oxidativos. É formado quando o superóxido recebe mais um elétron e dois íons hidrogênio (reação 2); e o radical hidroxil ($OH^\cdot$), formado principalmente pela reação do peróxido de hidrogênio com metais de transição (reação 3) (SCHNEIDER et al., 2004).



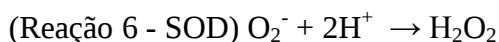
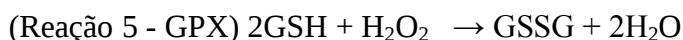
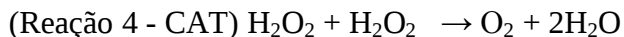
Elevadas concentrações de EROs causam danos moleculares às estruturas celulares, com consequente alteração funcional de membranas, proteínas e até mesmo DNA, causando prejuízo das funções vitais dos tecidos e órgãos envolvidos (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1996; DRÖGE, 2002, SCHNEIDER, 2004). Nessas condições fisiológicas, pode-se dizer que um organismo encontra-se sob estresse oxidativo.

Em condições normais, o organismo está a todo tempo produzindo as EROs; no entanto, há sistemas de defesas antioxidantes capazes de garantir o estado redox da célula, ou seja, promover a eliminação das EROs produzidas e proteger o organismo das lesões desencadeadas (SCHNEIDER, 2004; OLIVEIRA, 2004). O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre taxa de produção de EROs e taxa de remoção pela defesa antioxidante, podendo caracterizar-se por um desbalanço redox temporário ou crônico (DRÖGE, 2002).

O sistema de defesa antioxidante de um organismo é constituído por diversas enzimas e de elementos antioxidantes não enzimáticos. Dentre o grupo de enzimas, incluem-se a catalase (CAT), a superóxido dismutase (SOD), a glutathiona peroxidase (GPX) e a glutathiona redutase (GR).

A catalase participa na reação de eliminação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), promovendo sua catálise até H_2O (reação 4). A glutathiona peroxidase converte a glutathiona reduzida (GSH) à glutathiona oxidada (GSSG), remove o peróxido de hidrogênio e forma água (reação 5). A SOD converte radical superóxido em peróxido de

hidrogênio (reação 5). Tanto a CAT quanto a GPX evitam acúmulo de radical superóxido e peróxido de hidrogênio, para que não ocorra a formação do radical hidroxil, que é o mais reativo dos intermediários.



Dentre os elementos não enzimáticos, podem-se incluir os compostos sintetizados pelo organismo como a bilirrubina, o ácido úrico, a melatonina e os adquiridos por meio da dieta como ácido ascórbico (vitamina C), α -tocoferol (vitamina E) e flavonoides.

Várias são as situações que se associam ao estresse oxidativo, por exemplo, hábitos de vida inapropriados como dieta inadequada, fumo, ingestão excessiva de álcool, bem como condições ambientais impróprias, como poluição e exposição à radiação, e exercício realizado de forma excessiva (DROGE, 2002).

As EROs participam de várias etapas do processo de carcinogênese - iniciação, promoção e progressão - podendo até ser consideradas como substâncias carcinógenas.

O exercício físico é uma condição que exerce influência sobre a formação de radicais livres e sobre o sistema de defesa antioxidante. Em decorrência do aumento do trabalho muscular, durante a realização da atividade, ocorre aumento no consumo de oxigênio; consequentemente, a quantidade de O_2 que não é reduzida no final da cadeia de transporte de elétrons aumenta na mesma proporção do aumento do volume global de exercício, produzindo maior quantidade de EROs (PASCHOAL, 1998). A literatura aponta que o exercício regular resulta em adaptações no sistema de defesa antioxidante. Para proteger os tecidos dos danos causados pelas EROS, as enzimas antioxidantes elevam suas atividades nos tecidos e órgãos de animais treinados (AOI et al., 2010). Dessa forma, o exercício pode ser usado como abordagem que vise a prevenção do câncer de cólon por reduzir o estresse oxidativo.

Há possíveis formas de interferir no estágio de iniciação do tumor como modificar a ativação do carcinógeno, pela inibição de enzimas responsáveis por essa ativação; melhorar a destoxificação do carcinógeno, por alterar a atividade de enzimas de limpeza de radicais livres e espécies reativas ao DNA; e modular certos processos de reparos de DNA (ROGERS et al., 2008). As reações envolvidas na ativação metabólica

de carcinógenos podem liberar EROs, que podem atacar o DNA. A inativação de intermediários, que reagem com o DNA com antioxidantes endógenos (enzimas antioxidantes), constitui estratégia plausível para a modulação do estágio primário (iniciação) da carcinogênese (ROGERS et al., 2008). Sendo o fígado o maior órgão metabólico responsável pela destoxificação de várias substâncias (DA SILVA et al., 2010). O entendimento das respostas de marcadores oxidativos no fígado desencadeadas pelo exercício em animais induzidos ao câncer pode ser útil para ajudar a explicar o efeito protetor do exercício no processo de carcinogênese.

Embora haja um número limitado de trabalhos que examinam a relação entre destoxificação de carcinógeno e exercício, os resultados sugerem que o exercício pode melhorar a expressão de enzimas na via de inativação do carcinógeno. Enzimas antioxidantes podem ser expressas em maior quantidade em vários tecidos, em resposta ao treinamento, que são relevantes para o câncer humano. Em adição, mecanismos enzimáticos de reparo de DNA também são aumentados com o exercício em longo prazo, prevenindo o efeito mutagênico do dano oxidativo induzido pelas EROs (ROGERS et al., 2008; PERSE et al., 2009).

A atividade física de intensidade moderada e regular é relacionada a benefícios na saúde em geral, por reduzir o risco de doenças crônicas não transmissíveis; no entanto, sugere-se que o exercício agudo e extenuante aumente o estresse oxidativo via EROs e ERNs (WAGNER et al., 2010). Wagner et al. (2010) examinaram o impacto de uma prova de *IronMan* sobre parâmetros relacionados a danos ao DNA e estresse oxidativo, verificando possíveis riscos à saúde, em amostra de 42 triatletas homens, dois dias antes da prova, 20 minutos após a corrida, e em um, cinco e 19, dias após a prova. Os resultados apresentaram que os marcadores de estresse oxidativo aumentaram somente moderadamente depois da corrida (20 min após) e retornaram aos valores basais depois de cinco dias. Os marcadores de danos ao DNA não apresentaram mudança no primeiro dia após a prova. Embora esse distúrbio no balanço oxidante/antioxidante foi sustentado por pelo menos uma hora após uma prova de *IronMan*, não houve nenhum detrimento persistente à saúde, em razão do estresse oxidativo, reforçando ainda mais as evidências de que o treinamento crônico induz adaptações bioquímicas, resultando ou numa diminuição de produção de EROs ou numa melhora da defesa antioxidante. Uma questão importante a ser reforçada é a ingestão adequada de nutrientes antioxidantes durante exercícios de *ultraendurance*.

Da Silva et al. (2009) mostraram que as adaptações enzimáticas ao exercício físico ocorrem por expressão aumentada das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT). Silva et al. (2010) demonstraram que foram necessárias oito semanas de treinamento em corrida para que aumentasse a atividade antioxidante da SOD no fígado de camundongos. Duncan et al. (1997) observaram que não houve alteração da atividade da CAT e sim aumento da atividade da SOD no fígado de animais treinados em esteira quando comparados aos de controles sedentários.

O primeiro estudo realizado para verificar o efeito do exercício sobre o sistema oxidante em ratos com carcinoma do cólon induzido por DMH foi o trabalho de Perse et al. (2009). Os autores investigaram os efeitos do exercício em natação, combinado com uma dieta com alto teor de lipídeos mistos, na capacidade antioxidante dos músculos cardíacos e esqueléticos de ratos com câncer de cólon. Os resultados evidenciaram que o sistema de defesa antioxidante do músculo sóleo de ratos com carcinoma foi comprometido pela dieta e que o exercício de natação de baixa intensidade preveniu a peroxidação lipídica, por elevar a atividade das enzimas SOD e CAT. Entretanto, o aumento da peroxidação lipídica no coração de todos os grupos com câncer indicou que o carcinoma prejudicou a condição antioxidante do músculo cardíaco. Essa falha no coração indica que a capacidade antioxidante melhorada depois do período de atividade física regular não é suficiente para compensar o estresse oxidativo causado pelo carcinoma do cólon induzido por DMH.

Frajacomo (2010) revelou resultados significativos para a expressão hepática de GSH nos grupos exercitados, comparados aos de controles; no entanto, quando a comparação foi feita entre os grupos tratados com DMH exercitados e de controles, nenhuma diferença foi encontrada. Da mesma forma, o exercício não conseguiu reverter os danos do estresse oxidativo causados pela indução de DMH.

Os estudos sugerem que as análises das enzimas do sistema antioxidante devem ser feitas também nos órgãos específicos à droga indutora do câncer. Aoi e colaboradores (2010) demonstraram que o exercício regular não alterou a expressão das enzimas SOD, CAT, GPX no cólon dos animais; entretanto, a CAT foi aumentada somente nos camundongos injetados com AOM, provavelmente como resultado da ativação do sistema protetor contra o estímulo do carcinógeno.

Os mecanismos pelos quais o exercício melhora o sistema de defesa antioxidante não estão completamente esclarecidos. Diferentes e contraditórios resultados têm sido encontrados, provavelmente por causa de discrepâncias nos protocolos (intensidade,

duração, frequência e tipo). Pesquisas futuras devem ser feitas, com base em biologia molecular, para elucidar os mecanismos, que, por meio do exercício, pode proteger contra o câncer colorretal via sistema antioxidante.

3.8. Sistema imune

Com a proposição de que a atividade física pode influenciar positivamente um ou mais sistemas biológicos na defesa anticâncer, a modulação do sistema imune promovida pelo exercício físico tem recebido atenção no campo das pesquisas envolvendo carcinogênese (FAIREY et al., 2002).

Há uma teoria no campo da imunologia do exercício conhecida como a hipótese do J invertido. Esse modelo sugere que, em atividades de intensidade moderada, a função imune aumenta acima dos níveis de sedentarismo; entretanto, quantidades excessivas de exercício, em intensidade alta, podem prejudicar a função imune (NIEMAN, 1994). Portanto, essa melhora da função imune com o exercício moderado e regular pode acarretar redução da susceptibilidade ao câncer, enquanto sessões repetidas de exercício exaustivo podem suprimir o sistema imune e elevar a susceptibilidade ao câncer (WOODS et al., 2006).

O sistema imune responde aos estímulos do exercício de duas formas: a primeira é transitória ao estresse, conhecida como resposta aguda, gerada durante e logo após uma sessão de treinamento; e, a segunda, uma adaptação crônica, que após várias sessões de exercício possibilita ao organismo tolerar melhor o estresse (COSTA ROSA, 2002). Muitos estressores como cirurgia, trauma, queimaduras, septicemia causam resposta hormonal e imunológica similar ao exercício (PEDERSEN; HOFFMAN-GOETZ, 2000); portanto, é razoável considerar o exercício um modelo confiável de estresse físico (HOFFMAN-GOETZ; PEDERSEN, 1994). Ao contrário do grande número de estudos sobre a resposta imune aguda ao exercício, pouco se sabe a respeito do efeito do condicionamento físico na função imune (PEDERSEN; HOFFMAN-GOETZ, 2000). Uma das formas de medir esse efeito crônico é comparar parâmetros imunes em indivíduos controles sedentários com atletas bem condicionados. A atividade das células *natural killer* (NK) está aumentada no grupo de atletas em comparação com os sedentários, tanto em períodos de treino de baixa intensidade quanto de alta intensidade. No entanto, há estudos que apresentam que outras subpopulações de linfócitos, assim como a resposta proliferativa desses linfócitos não se alteram entre

sujeitos treinados e destreinados; portanto, os resultados são inconclusivos. A função de neutrófilos, todavia, parece ser suprimida pelo exercício (PEDERSEN; HOFFMAN-GOETZ., 2000).

As concentrações de linfócitos plasmáticos aumentam durante o exercício e diminuem, abaixo dos níveis pré-exercício, após esforço de longa duração, provavelmente em razão do recrutamento de todas as subpopulações linfocitárias para o sangue (PEDERSEN; HOFFMAN-GOETZ, 2000). Esse nível mais baixo no período pós-exercício caracteriza efeito anti-inflamatório do exercício, o que contribui para proteção contra diversas patologias, dentre elas o câncer de cólon. A teoria da imunovigilância afirma que qualquer célula cancerígena em potencial pode ser erradicada antes mesmo de sua detecção clínica, se essa puder ser reconhecida e destruída pelos componentes do sistema imune inato e adquirido (FAIREY et al., 2002).

Apesar de dados epidemiológicos, há ainda falta de evidências experimentais que evidenciam os efeitos do exercício físico de alta intensidade na modulação do sistema imune em um processo de carcinogênese.

Bacurau et al. (2007) demonstraram em ratos *Wistar* que o exercício de intensidade alta pode ser estratégia viável no combate ao câncer, pois o efeito dele diminuiu o tamanho do tumor, aumentou a expectativa de vida e preveniu a maioria das mudanças na função e no metabolismo de macrófagos e linfócitos no tecido tumoral.

Uma interação complexa dos enterócitos com as células de defesa do intestino indica que esses podem desempenhar papel importante na resposta imunológica, além das funções básicas de absorção. Uma rede de interação coordenada entre epitélio, células imunes, nervosas, endoteliais e matriz extracelular garante o bom funcionamento do intestino. Os enterócitos, provavelmente, coordenam os processos imunológicos, regulando a funcionalidade de macrófagos e linfócitos intraepiteliais (FIOCCHI, 1997).

As funções imunológicas da mucosa intestinal são dependentes de uma organização dos tecidos imunes e epiteliais; regiões especializadas são formadas por essa organização, como as Placas de Peyer, os nódulos linfáticos e várias células imunes dispostas aleatoriamente na mucosa. Tecido Linfóide Associado ao Intestino (GALT) é o nome dado a essas regiões (ROBINS; COTRAN, 2010).

A lâmina própria é um local efetor do sistema imune associado à mucosa e é encontrada entre o epitélio e a muscular da mucosa, que contém linfócitos, macrófagos, células dendríticas, neutrófilos, eosinófilos e mastócitos, que se encontram em constante diferenciação, renovação e migração. O intestino é um local muito importante para o

desengatilhamento de respostas imunes primárias, o que pode alterar a resposta sistêmica total, não somente para antígenos ingeridos, mas também para qualquer outro tipo de antígeno (VALDÉS-RAMOS et al., 2010).

O sistema imune da mucosa provê proteção por meio de toda a superfície da mucosa epitelial nos tratos respiratório, urogenital e gastrointestinal. Dessa forma, um aumento da imunidade da mucosa pode fornecer proteção seletiva contra o crescimento e desenvolvimento de tumores no intestino (ROGERS et al., 2007).

Em relação à intensidade, Gleeson e Pyne (2000) afirmaram que exercício em nível de intensidade alta pode causar supressão de parâmetros imunes da mucosa, enquanto em nível moderado pode ter efeitos positivos.

No que diz respeito à imunidade da mucosa, a maioria das pesquisas tem sido feitas na mucosa do trato respiratório, particularmente na medição de IgA secretada na saliva. A maioria dos pesquisadores concluiu que o exercício crônico e agudo de alta intensidade provoca imunossupressão, diminuindo as concentrações de IGA, que pode também estar relacionada com aumento de infecções do trato respiratório superior em atletas, imediatamente após as competições (GLEESON; PYNE, 2000; PEDERSEN; PETERSEN et al., 2005). No entanto, não há muitas informações sobre os efeitos da atividade física sobre a imunidade da mucosa intestinal, embora provavelmente exerça algum benefício. Para tanto, estudos adicionais em modelos animais são necessários para ajudar a esclarecer essa questão relacionada ao efeito do exercício físico na imunidade da mucosa intestinal, principalmente num processo de carcinogênese do cólon.

O tecido linfóide associado ao intestino (GALT) é o maior órgão linfóide do corpo humano, contendo cerca de 70% de todas as células do sistema imunológico (10^6 linfócitos por grama de tecido). Esse pode ser dividido em locais de indução como as placas de Peyer, os nódulos mesentéricos e os folículos linfóides isolados, locais efetores como a lâmina própria e epitélio (VALDÉS-RAMOS et al., 2010).

O exercício físico reforçou a proliferação de células T da mucosa intestinal, bem como a produção de citocinas (IL-5, IL-6, IFN- γ), em animais com livre acesso à roda voluntária, sendo, portanto, uma intervenção possivelmente eficaz de prevenção do câncer, por aumentar a capacidade funcional de linfócitos, particularmente os localizados no intestino. Esses resultados sugerem que o exercício melhora o sistema imune da mucosa, por respostas celulares e humorais. Esse reforço da resposta das células T, nas placas de Peyer, pode resultar em uma melhoria da imunovigilância

contra patógenos ingeridos e contra o crescimento de células neoplásicas ou pré-neoplásicas no trato gastrointestinal (ROGERS et al., 2007). Como a mucosa constitui uma barreira e é a primeira linha de defesa do sistema imunológico, qualquer desregulação ou prejuízo do sistema imunológico associado à mucosa pode estar envolvida em uma série de doenças inflamatórias como a colite ulcerosa, doença celíaca, assim como maior susceptibilidade ao câncer (WEST et al., 2009).

Hoffman-Goetz e Quadrilátero (2003) apresentaram que uma única sessão de exercício intenso e prolongado em esteira foi associada à diminuição do número de linfócitos intestinais 24 horas após completar a sessão de exercício, provavelmente, em razão da apoptose das células imunitárias. Uma redução do número total de células T, B e NK, como consequência do aumento da apoptose dessas, pode resultar em uma diminuição da barreira imune e levar a uma imunossupressão na superfície intestinal, o que pode tornar o organismo vulnerável à patógenos invasores e à formação de câncer na mucosa intestinal. O exercício crônico aumentou a citólise tumoral mediada por macrófagos em ratos jovens e velhos (LU et al., 1999).

O sistema imune é altamente complexo e compreende vários tipos celulares e mediadores solúveis produzidos por tais células, que têm a função de combater agentes patógenos e células malignas (ABBAS; LICHTMAN, 2005). A eficiência do treinamento físico depende de uma combinação de intensidade, volume, periodização e repouso. Trabalhos com modelos de alta intensidade (BACURAU et al., 2007; QUIST et al., 2006; ADAMSEN et al., 2009) não apresentaram nenhum comprometimento das funções imunes nem intercorrências negativas resultantes da intensidade do treinamento. Em outro estudo com alta intensidade, porém de atividade anaeróbia, De Lima et al. (2008) avaliaram a resposta proliferativa de linfócitos, em ratos inoculados com tumor de Walker e submetidos ao treinamento de salto. O exercício reduziu o crescimento tumoral, provavelmente por aumentar a resposta proliferativa de linfócitos. No mesmo estudo, a ação antitumor de macrófagos foi maior nos ratos exercitados induzidos ao tumor, quando comparados aos controles sedentários; os ratos exercitados aumentaram a fagocitose pelos macrófagos, resultado que tem sido associado à redução de metástases.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Aspectos éticos

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa (UFV), processo nº 50/2010. O experimento foi conduzido em conformidade com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA (COBEA, 2009).

4.2. Animais de experimentação e desenho experimental

Para a realização do experimento, foram utilizados 39 ratos da linhagem *Wistar* (*Rattus norvegicus*) com cinco semanas de idade, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa.

Os animais foram mantidos no Biotério de Experimentação Animal do Departamento de Educação Física da UFV. Foram distribuídos em grupos experimentais e alojados em gaiolas de polipropileno de 40x30x12 cm³, com cinco animais por gaiola. Os animais receberam ração comercial, água *ad libitum* e tiveram a temperatura controlada (20°C ± 2°C), assim como regime de luminosidade de 12/12 h claro/escuro, durante todo o experimento. O experimento teve duração de 13 semanas, contadas a partir da semana em que os animais iniciaram o treinamento. O peso dos animais foi monitorado semanalmente.

Os animais foram divididos em sedentários e exercitados e foram alocados em quatro grupos. Após o período de treinamento de oito semanas, foi feita a indução da carcinogênese. A seguir, a divisão e as características dos grupos experimentais:

Grupo controle (C):

Composto por 11 animais, não foram submetidos ao treinamento de natação; foram mantidos em duas gaiolas coletivas. Esses receberam aplicações de solução salina (placebo) e foram mantidos em um tanque com água (5 cm de profundidade), durante o mesmo tempo de exercício dos grupos exercitados. Foram eutanasiados 21 dias, após a aplicação da salina.

Grupo controle e DMH (CD):

Composto por 10 animais, não foram submetidos ao treinamento de natação. Esses foram mantidos em duas gaiolas coletivas. Receberam aplicações de DMH e foram mantidos em um tanque com água (5 cm de profundidade), durante o mesmo tempo de exercício dos grupos exercitados. Foram eutanasiados 21 dias após a aplicação da droga.

Grupo Exercício e DMH (ED):

Composto por nove animais, esse realizaram o protocolo de natação, durante o período de oito semanas. Foram mantidos em duas gaiolas coletivas. Receberam aplicações de DMH. Foram eutanasiados 21 dias após a aplicação da droga.

Grupo Exercício (E):

Composto por nove animais, os ratos realizaram o protocolo de natação, durante o período de oito semanas, foram mantidos em duas gaiolas coletivas. Receberam aplicações de uma solução salina (placebo). Foram eutanasiados 21 dias após a aplicação da salina.

Após as oito semanas de treinamento (item 4.3), foi feita a indução da carcinogênese durante as semanas nove e dez (item 4.4). Os animais foram sacrificados, após 21 dias da última injeção de DMH ou salina (item 4.6). O delineamento experimental está representado na Figura 3.

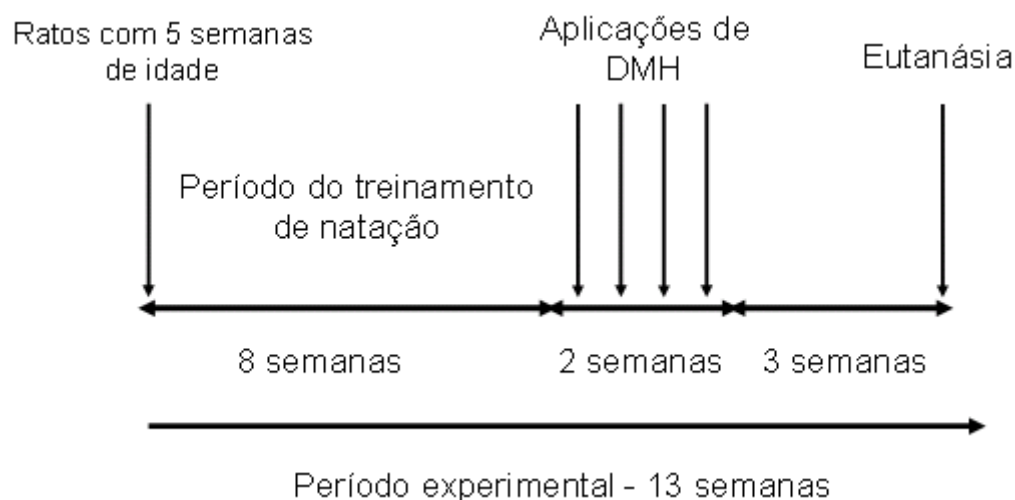


Figura 3- Delineamento experimental.

4.3. Protocolo de exercício físico

O modelo de exercício utilizado foi a natação. Foram utilizados quatro tanques retangulares de alvenaria, com água à profundidade de 45cm. A temperatura da água foi mantida em $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. A sobrecarga foi calculada semanalmente como porcentagem do peso corporal e os pesos correspondentes foram atados à cauda do animal. A progressão do treinamento encontra-se detalhada no Quadro 1.

Quadro 1 – Progressão do treinamento em natação

SEMANA	SOBRECARGA	SEG	TER	QUA	QUI	SEX
1 ^a	0%	10min	15min	25min	35min	45min
2 ^a	1%	40min	50min	60min	60min	60min
3 ^a	2%	60min	60min	60min	60min	60min
4 ^a	3%	60min	60min	60min	60min	60min
5 ^a	4%	60min	60min	60min	60min	60min
6 ^a	5%	30min	30min	35min	40min	40min
7 ^a e 8 ^a	6%	30min	30min	30min	30min	30min

Sobrecarga (porcentagem do peso corporal).

Na primeira semana, foi realizada a adaptação dos animais, começando com 10 minutos de natação sem sobrecarga, iniciando na segunda-feira. Progressivamente, foi aumentado o tempo, até atingir 45 minutos na sexta-feira. Na segunda semana de adaptação, o tempo do exercício foi aumentando até atingir 60 minutos, colocando-se sobrecarga de 1% do PC. A partir da terceira semana até a quinta semana, os animais nadaram durante 60 minutos, aumentando progressivamente a sobrecarga em 1 ponto percentual, terminando a quinta semana com 4% do PC. Na sexta semana, a sobrecarga foi aumentada em 1%, chegando a 5% do PC; o volume foi reduzido, chegando a 40 minutos até o final da semana. Na sétima e oitava semana, os animais nadaram com 6% do PC, durante 30 minutos.

Os animais dos grupos C e CD constituíram os grupos sedentários até o final da oitava semana. Esses foram mantidos em uma caixa de polipropileno com água à 10cm de profundidade, temperatura de $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante o mesmo tempo de exercício dos demais grupos.

Em ratos *Wistar*, o limiar anaeróbio é alcançado com sobrecarga de $4,9 \pm 0,10\%$ do peso corporal (VOLTARELLI et al., 2002), portanto, a carga escolhida de 6% PC caracteriza uma atividade acima do limiar de lactato. O protocolo foi adaptado de GOBATTO et al. (2001).

Para verificar a eficiência do programa de natação, foi mensurada a frequência cardíaca de repouso (FCR) antes e após as oito semanas de treinamento, utilizando-se o aparelho LabChart, versão 7.0 (AD Instruments). O animal foi contido em um aparato, tubo de PVC com 17 cm de comprimento e 6 cm de diâmetro, onde o rabo ficava exposto. Esse aparato com o rato era colocado dentro de uma caixa de polipropileno $40 \times 30 \times 12 \text{ cm}^3$, em ambiente sem luz e sem ruídos. Um transdutor de sinal foi atado à cauda do animal e os sinais da frequência cardíaca eram registrados por um software acoplado ao sistema de registro em microcomputador. O tempo para estabilização da FC de cada animal foi de 30 minutos. Foram utilizados em média seis momentos de estabilização da frequência cardíaca, em 30 minutos de medição. Utilizou-se a média desses seis momentos de estabilização, para determinar a FCR do animal.

4.4. Indução das lesões pré-neoplásicas na mucosa colônica

Os animais dos grupos CD e ED receberam quatro aplicações subcutâneas de 1,2 dimetilhidrazina (DMH), na dose de 40 mg/kg de peso corporal por aplicação. A DMH foi preparada imediatamente antes do uso, dissolvida em NaCl (0,9%), contendo EDTA (1,5%) como veículo, e o pH final ajustado para 6,5. Foram duas aplicações por semana, durante duas semanas (nona e décima semanas), em dias não consecutivos, logo após o término do período de treinamento. Os animais dos grupos C e E receberam, nos mesmos dias, injeções de solução salina, para serem submetidos ao mesmo estresse da injeção, porém sem a DMH.

4.5. Coleta das Amostras

Após as 13 semanas de experimento, contadas a partir da primeira semana de treinamento, os animais foram sacrificados por inalação de CO₂ e as amostras de interesse foram coletadas.

O intestino grosso de três animais aleatórios de cada grupo foi totalmente removido da cavidade abdominal, aberto longitudinalmente pela margem contramesentérica, lavado em solução salina fisiológica e fixado em solução tamponada de formol a 10% (Formalina de Carson), por 48 horas. A fixação do intestino grosso no formol foi realizada conforme Oliveira e Chaves Dias (2003). Após os intestinos serem identificados, esses foram presos por alfinetes a uma placa de parafina, permanecendo submersos em solução de formol.

O intestino grosso de cinco animais de cada grupo foi dividido em partes proximal, medial e distal e fixados em formalina de Carson, por 48 horas, e conservados em álcool 70° para análises histológicas.

O fígado dos animais foi removido; metade desse foi congelado e mantido em freezer a -80 °C até análise.

4.6. Quantificação e categorização das lesões pré-neoplásicas

Depois de fixados em formol por 48 horas, os intestinos grossos de três animais foram medidos e divididos em três fragmentos iguais, denominados de fragmento proximal, médio e distal, em relação ao ceco. Em seguida, foram corados em azul de metileno a 0,1% por um minuto e lavados em tampão fosfato (PBS), para análise microscópica de toda extensão da superfície mucosa.

A superfície mucosa do intestino grosso foi observada com auxílio de microscópio de luz, com aumento de 100 X, para identificação das lesões pré-neoplásicas, conhecidas como Focos de Criptas Aberrantes (FCA), de acordo com a técnica de Bird (1987). Os FCAs foram quantificados e categorizados de forma duplo-cega por dois pesquisadores.

4.7. Análise quantitativa de linfócitos e neutrófilos/eosinófilos

Secções histológicas do cólon medial do intestino grosso foram obtidas de cinco animais dos grupos C, CD, ED e E, escolhidos aleatoriamente. Os fragmentos foram

fixados em formalina de Carson, durante 48 horas. Após desidratação em gradiente crescente de etanol, o material foi diafanizado em xilol e incluído em parafina. Foram montadas três lâminas de cada animal, cada uma contendo cinco cortes longitudinais, obtidos em micrótomo rotativo (Olympus America Inc., CUT 4055), com intervalo mínimo de 40 micrômetros entre esses. Os cortes foram corados com hematoxilina e eosina (HE). Obtiveram-se de cada lâmina cinco imagens (2.048 x 1.536 pixels) de cinco cortes não consecutivos (objetiva 40x), totalizando 375 campos por grupo experimental. As imagens foram obtidas com uma câmera digital Q-color3 (Olympus), acoplada ao microscópio BX-60 (Olympus). A contagem do número de linfócitos e neutrófilos/eosinófilos presentes no campo histológico foi realizada, utilizando-se o *software Image Pro-Plus®*, versão 4.5 (Media Cybernetics). A sobreposição da máscara foi padronizada (12 linhas x 9 colunas) nos campos fotografados e todos os linfócitos e neutrófilos/eosinófilos foram contados (Figura 4).

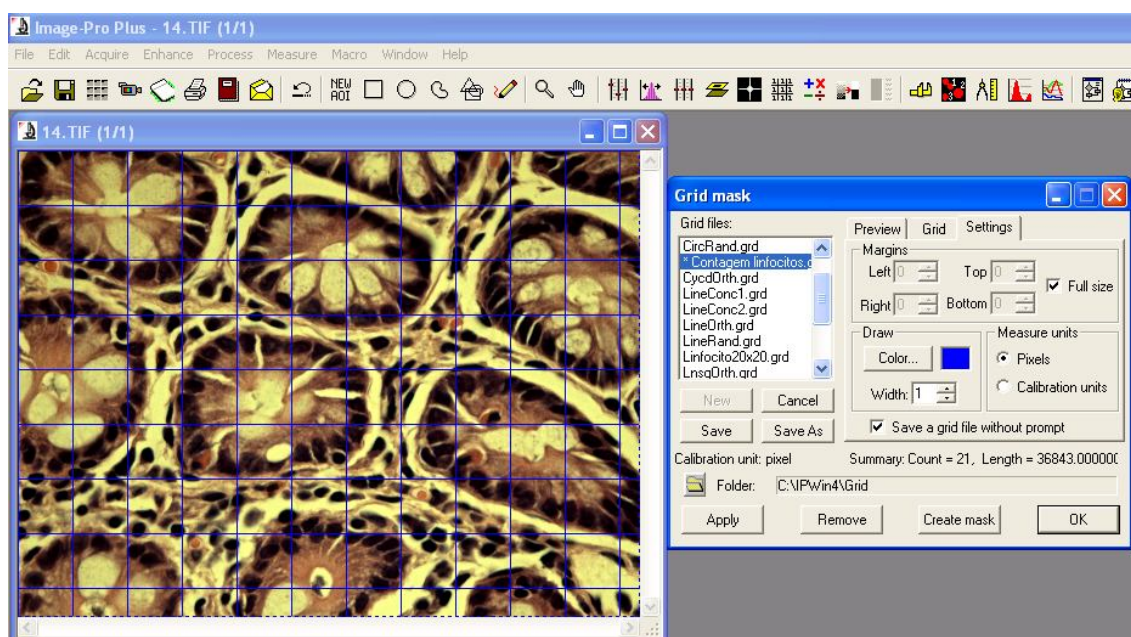


Figura 4- Fotomicrografia de seção histológica do cólon medial do intestino grosso de rato *Wistar*, com sobreposição de uma matriz quadrada padrão. Todos os linfócitos e outras células inflamatórias foram contabilizados. Coloração HE, aumento 400x.

4.8. Análise histomorfométrica das criptas

Secções histológicas do cólon medial do intestino grosso foram obtidas de cinco animais dos grupos C, CD, ED e E, escolhidos aleatoriamente. Os fragmentos foram

fixados em formalina de Carson, durante 48 horas, e, após desidratação em gradiente crescente de etanol, o material foi diafanizado em xilol e incluído em parafina. Foram montadas três lâminas de cada animal, cada uma contendo cinco cortes longitudinais, obtidos em micrótomo rotativo (Olympus America Inc., CUT 4055), com um intervalo mínimo de 40 micrômetros entre esses. Os cortes foram corados com hematoxilina e eosina (HE). Cinco imagens (2.048 x 1.536 pixels) de cinco cortes não consecutivos (objetiva 10x) foram obtidas de cada lâmina, totalizando 375 campos por grupo experimental. Obtiveram-se imagens com uma câmera digital Q-color3 (*Olympus*) acoplada ao microscópio BX-60 (*Olympus*). As medidas foram tomadas do comprimento somente em imagens em que era possível ver a base e o ápice da cripta e a largura foi tomada no ponto de maior luz da cripta. Foram selecionadas 15 fotos por animal. (Figura 5)

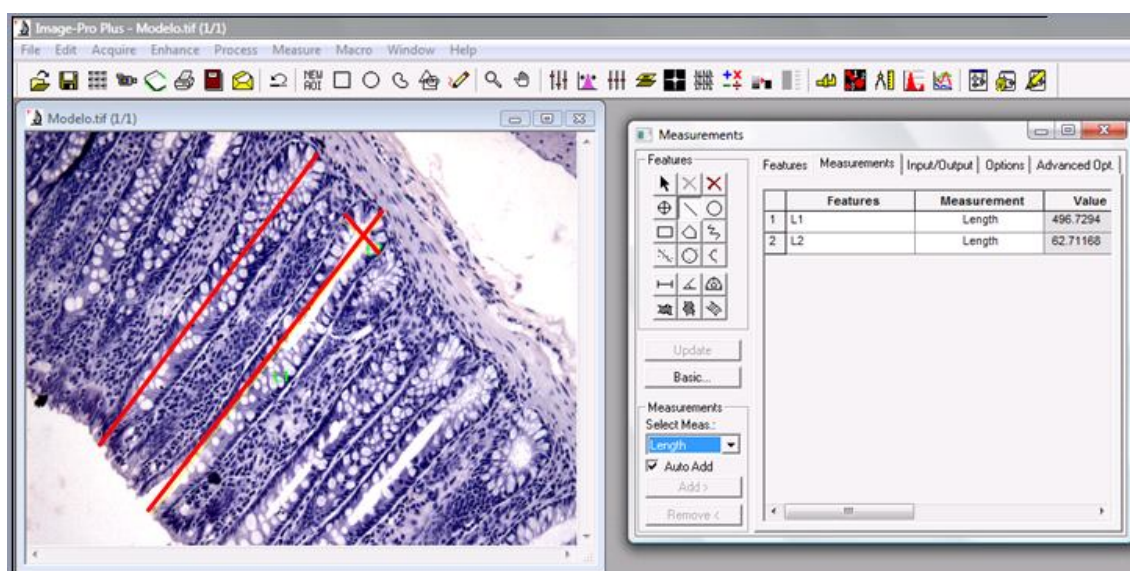


Figura 5- Fotomicrografia das criptas intestinais do cólon medial de ratos *Wistar*. As linhas representam comprimento e largura das criptas medidas com o aplicativo Image ProPlus®. Coloração HE, aumento 100X.

4.9. Determinação da atividade de enzimas antioxidantes

Para determinar a atividade da CAT, porções do fígado foram homogeneizadas em tampão fosfato 50 mM e a suspensão resultante foi centrifugada por 10 min a 6.000 rpm, 4 °C. O sobrenadante foi utilizado para a dosagem das enzimas. A atividade da CAT foi determinada pela taxa de decaimento do peróxido de hidrogênio lido em

espectrofotômetro a 240 nm, segundo descrito anteriormente (AEBI, 1984). A atividade da SOD foi determinada, segundo protocolo adaptado de Dieterich et al. (2001) que com base na habilidade da superóxido dismutase retirar o O_2^- , diminuindo, assim, a razão de autooxidação do pirogalol, com leitura em espectrofotômetro a 570 nm. O conteúdo de proteínas foi mensurado, de acordo com o método descrito por Lowry et al. (1951). Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

4.10. Análise Estatística

Os dados FCA, SOD e CAT e as análises histológicas (Y) foram submetidos a análises de variância (ANOVAs) para determinar os efeitos dos tratamentos (Grupos de TRAT com três graus de liberdade), conforme o seguinte modelo:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + \varepsilon_{ij}$$

em que Y_{ij} é a variável resposta obtida no j-ésimo rato do i-ésimo grupo; μ , a média geral; ε_{ij} , o erro aleatório não observável do modelo. Quando a ANOVA indicou efeito significativo do grupo de tratamento, procedeu-se à decomposição dos três graus de liberdade para grupos em efeitos fixos de Exercício (E), do Câncer (C) e da interação (C x E), conforme o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + E_i + C_j + (E \times C)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Quando a interação foi significativa, procedeu-se ao estudo dos efeitos dos fatores Câncer e Exercício hierarquizados ou dentro do nível do outro fator, isto é, compararam-se níveis de Exercício (sim vs não), separadamente, entre os grupos com câncer e sem câncer e vice-versa. A pressuposição da ANOVA de homogeneidade de variâncias entre os grupos foi checada e não se verificou nenhuma violação dessa pressuposição para nenhuma das variáveis resposta. A estratégia adotada após as ANOVAs foi a de comparar as médias pelo procedimento de Tukey (adotaram-se 5% como nível de significância) com ajustamento do valor p por Tukey-Kramér, pois os dados eram desbalanceados (números desiguais de ratos entre os grupos). Os valores p das análises são informados nos resultados.

Para o peso corporal (Y), basearam-se as análises no ajuste de modelos de regressão: linear simples, $Y = a + bX$, ou linear do segundo grau, $Y = a + bX + cX^2$, para comparar os perfis de ganho de peso semanais (X =tempo em semanas) entre os tratamentos.

Para a eficiência do exercício, as médias da FCR dos grupos, antes e depois do treinamento, foram comparadas utilizando-se ANOVA para medidas repetidas.

Todas as análises foram implementadas no *software* SAS com os procedimentos GLM e MIXED (SAS, *Statistical Analysis System*, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA - versão 9.2, licenciado para a UFV, 2011).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Peso Corporal

Os resultados referentes ao peso corporal dos animais, durante 13 semanas de período experimental, estão apresentados na Figura 6.

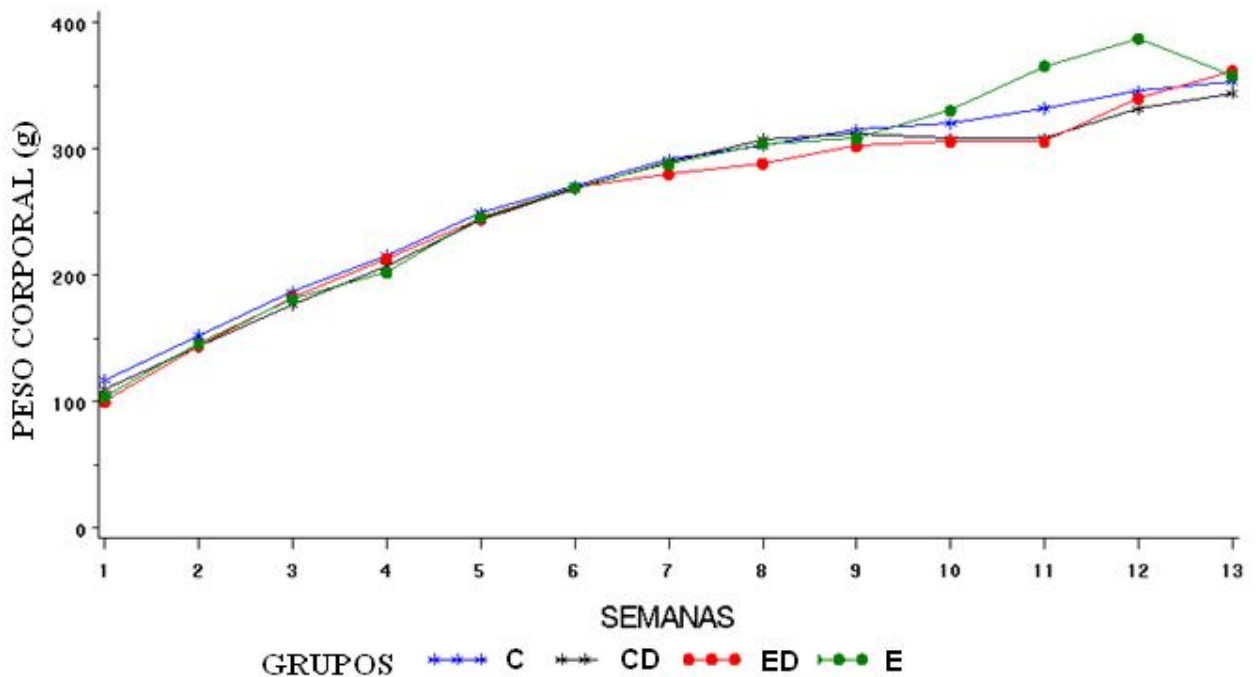


Figura 6. Modelos de regressão ajustados para descrever a variabilidade dos pesos médios dos diferentes grupos experimentais, avaliados em 13 semanas. C = grupo controle (11 animais); CD = grupo controle e DMH (10 animais); ED = grupo exercício e DMH (9 animais); E = grupo exercício (9 animais).

Não foram encontradas diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os pesos dos animais dos diferentes grupos no início do tratamento (C: $117,18 \pm 12,78$; CD: $109,90 \pm 7,07$; ED: $99,66 \pm 12,79$; e E: $103,66 \pm 10,41$) (“Média $\pm$ DP”), o que comprova a homogeneidade entre os grupos nessa fase. Todos os animais aumentaram o peso corporal até o final do período experimental e nenhuma diferença entre os grupos foi encontrada durante esse período.

Neste estudo, o exercício não foi capaz de interferir no ganho de peso. Considerando que o exercício promoveu adaptações cardiovasculares, como redução da FCR, item 5.2, é possível que os animais exercitados tenham consumido mais ração que os controles equilibrando o ganho de peso. Outros parâmetros que poderiam corroborar com o que foi evidenciado são a composição corporal e ingestão alimentar; entretanto, esses não foram avaliados. Os dados da literatura são controversos, alguns estudos também encontraram o mesmo resultado (ALMEIDA et al., 2009; PERSE et al., 2009; AOI et al., 2010); todavia, outros apresentaram ganho de peso maior nos grupos controles (FUKU et al., 2007; LUNZ et al., 2008; DEMARZO et al., 2008; FRAJACOMO, 2010), em relação aos grupos exercitados.

A aplicação da DMH também não interferiu no ganho de peso corporal entre os grupos, o que está de acordo com outros estudos sobre câncer e exercício (ALMEIDA et al., 2009; PERSE ET al., 2009; AOI et al., 2010). Há a síndrome da caquexia do câncer, em que ocorre perda excessiva de tecido muscular e gorduroso (BACURAU et al., 2007); no entanto, acredita-se que o tempo experimental, após a aplicação da droga, não foi suficiente para causar tais alterações nos grupos submetidos à aplicação de DMH, assim como nos estudos já citados.

Alguns estudos consideram que não há relação consistente entre os efeitos do exercício e o peso corporal sobre o processo de carcinogênese (ROGERS et al., 2008). Lunz (2006) mostrou que o treinamento de natação em diferentes intensidades não interferiu no peso corporal de animais com carcinogênese colorretal induzida por DMH e, além disso, os percentuais de gordura da carcaça e intra-abdominal não apresentaram associação causal com a incidência de tumores. Frajacomio (2010) mostrou que o treinamento físico exerce efeitos positivos sobre o câncer, por mecanismos independentes da perda de peso corporal.

5.2. Eficiência do programa de exercício

Os resultados referentes à FCR dos animais, antes e após serem submetidos a diferentes tipos de tratamento, estão apresentados na Tabela 1. Antes do treinamento, não houve diferença na FCR entre os grupos. Após o período experimental, os grupos ED e E apresentaram uma redução desse parâmetro, comparados com os animais dos grupos controle C e CD.

Quando comparou a FCR dentro do mesmo grupo, antes e após o treinamento, observou-se que os grupos ED apresentaram redução da FCR em resposta ao treinamento. Nenhuma diferença foi encontrada nos grupos controles C e CD (Tabela 1).

Tabela 1. Frequência cardíaca de repouso dos animais dos diferentes grupos experimentais antes e ao final de 13 semanas de experimento

Grupo	FCR antes do treinamento (bpm)	FCR após o treinamento (bpm)
-------	-----------------------------------	---------------------------------

C (n=5)	443,4 ±30,32	467,8 ±19,14# £
CD (n=5)	475,0 ±16,41	450,0 ±33,66# £
ED (n=5)	468,4 ±49,89*	358,8 ±65,80
E (n=5)	446,6 ±31,95*	345,8 ±11,77

Dados expressos em média ± desvio-padrão. C = grupo controle; CD = grupo controle e DMH; ED = grupo exercício e DMH; E = grupo exercício; n = número de animais por grupo. FCR= frequência cardíaca de repouso. * p< 0,05 vs frequência cardíaca, após o treinamento; # p< 0,05 vs ED; e £ p< 0,05 vs E, após o treinamento.

As baixas frequências cardíacas de repouso encontradas em atletas de *endurance* são explicadas, em parte, por um tônus vagal aumentado e impulso simpático reduzido. Além disso, um retorno venoso aumentado provoca maior força de contração cardíaca, em resposta a pré-carga aumentada (maior enchimento ventricular), que distende as fibras miocárdicas e ejetam maior volume sistólico (FOSS; KETEVAN, 2000; MCARDLE, 2001). Para um débito cardíaco, em que o coração bate mais lentamente com maior volume de ejeção, indica maior eficiência cardíaca (FOSS; KETEVAN., 2000).

A avaliação da FCR é considerada bom indicador de adaptação ao treinamento aeróbico. A interpretação da bradicardia de repouso é frequentemente empregada em estudos com experimentação animal como índice de efeito do treinamento (VENDITTI; DI MEO, 1996). Os resultados desse estudo indicam que o treinamento em natação foi eficiente em aumentar a capacidade aeróbica dos animais dos grupos treinados.

5.3. Focos de Criptas Aberrantes

Os resultados da contagem dos FCA totais entre os diferentes grupos experimentais, independentes da região do intestino, são apresentados na Tabela 2. Os grupos E e C não evidenciaram criptas aberrantes, uma vez que não foram tratados com DMH. Não houve diferença estatística entre os grupos tratados com DMH, exercitado ou controle.

Tabela 2- Focos de criptas aberrantes totais, independentes das regiões do intestino grosso dos grupos experimentais

Grupos	FCA total (número de FCA)
C (n = 3)	0

CD (n = 3)	102,66 ± 47,68
ED (n = 3)	92,33 ± 49,52
E (n = 3)	0

Dados expressos em média ± desvio-padrão. C = grupo controle; CD = grupo controle e DMH; ED = grupo exercício e DMH; E = grupo exercício; e n = número de animais por grupo. FCA = focos de criptas aberrantes.

Os resultados deste estudo não mostraram nenhum efeito do exercício. No entanto, percebeu-se que no treino acima do limiar de lactato, caracterizado como de alta intensidade de esforço, não houve aumento na contagem dos FCAs no cólon do intestino dos animais tratados com DMH, visto que estudos anteriores sugerem o aumento do surgimento e desenvolvimento dos FCAs com essa intensidade.

Além de ser consenso de que o exercício físico protege contra a carcinogênese colorretal (FRIEDENREICH; ORENSTEIN, 2002), sabe-se também que essa proteção está diretamente associada à intensidade de esforço. Discute-se que o exercício físico de alta intensidade aumentaria a produção de radicais livres e causaria imunossupressão, contribuindo, assim, para maior incidência tanto de lesões pré-neoplásicas quanto de tumores. No entanto, poucos estudos experimentais utilizando tal intensidade de exercício são encontrados. Demarzo e colaboradores (2004) submeteram ratos machos *Wistar* a uma sessão exaustiva de natação, seguida de aplicação de DMH; 15 dias após, esses autores encontraram o número de FCA três vezes maior que no grupo controle; porém, em nenhum grupo houve período de treinamento. Em outro estudo, o mesmo grupo submeteu ratos *Wistar* a um período de treinamento por oito semanas de baixa intensidade, com posterior aplicação da droga, e eutanásia, 15 dias após a aplicação do carcinógeno. Os autores encontraram menor proliferação das células epiteliais do intestino e efeito anti-inflamatório no grupo treinado, em comparação ao grupo controle (DEMARZO et al., 2008).

Quando se comparou os valores da contagem dos FCAs por regiões do intestino, somente na região proximal o grupo ED apresentou menor ($p < 0,05$) FCA que o grupo CD (Tabela 3), o que indica efeito protetor do exercício nessa região.

Tabela 3- Número de focos de criptas aberrantes nas regiões proximal, medial e distal do cólon do intestino grosso dos grupos experimentais, submetido ao período experimental

Grupos	Proximal	Medial	Distal
C (n = 3)	0,00	0,00	0,00
CD (n = 3)	36,66 ±26,53	42,33 ±26,08	23,66 ±12,42
ED (n = 3)	6,66 ±2,88*	44,00 ±27,22	41,66 ±20,55
E (n = 3)	0,00	0,00	0,00

Dados expressos em média ± desvio-padrão. EC = grupo exercício e câncer; E = grupo exercício; C = grupo controle; CD = grupo controle e DMH; e n = número de animais por grupo. * p< 0,05 vs CD.

Nas regiões medial e distal, nenhuma diferença foi encontrada na contagem dos FCAs (Tabela 3). O exercício não teve nenhum efeito, nem protetor nem promotor nas regiões medial e distal, onde a incidência do câncer intestinal é maior. Todavia, a comparação intragrupos de FCA entre regiões do intestino não diferiu para as regiões distal vs proximal, média vs proximal e distal vs medial (em todos os grupos).

Uma frequência maior de cânceres é diagnosticada na região distal do cólon e reto, com menor proporção nas regiões proximal e medial (BIRD, 2000; RODRIGUES et al., 2002). A aparente explicação dessas diferenças é que a mucosa intestinal na região distal fica mais tempo exposta a possíveis carcinógenos e agressões físicas, provocadas pelo enrijecimento fecal (GUYTON; HALL, 2006).

Acredita-se que a proteção da carcinogênese colorretal pelo exercício físico regular, como observado neste estudo, para a região proximal, aconteça por melhora na destoxificação do carcinógeno via citocromo P-450 (ROGERS et al., 2008); redução dos níveis de insulina e fatores de crescimento semelhantes à insulina (ROGERS et al., 2008; FRIEDENREICH, 2010); ou diminuição do tempo de trânsito gastrointestinal, (LIRA et al., 2008; ROGERS et al., 2008, FRIENDREICH, 2010). Outros estudos também mostraram o efeito protetor do exercício contra o câncer colorretal (AOI et al., 2010; FUKU et al., 2007), quando efetivado juntamente com a indução experimental ou quando realizado previamente à indução (DEMARZO et al., 2008), apesar de usarem intensidades diferentes.

O não efeito do exercício no aumento da contagem de FCA nas regiões medial e distal é bom resultado, pois uma sessão de exercício exaustivo aumentou o número de FCA em ratos com câncer experimental (Demarzo et al., 2004). A intensidade utilizada neste estudo não promoveu a carcinogênese. A corrida em esteira a 85% do VO_{2max} , 30

minutos/dia, cinco dias/semana, durante dez semanas, reduziu o crescimento da massa tumoral (BACURAU et al., 2007). Neste trabalho, os dados indicaram que um protocolo de treinamento prévio, de intensidade mais alta (acima do limiar de lactato) poderá ser utilizado sem trazer malefícios à saúde como aumento da incidência do câncer colorretal.

Em relação ao tamanho dos FCA total, independentemente da região (Tabela 4), foi encontrado número maior de FCA de menor tamanho ($FCA \leq 3$), em relação aos FCAs de maior tamanho ($FCA > 3$), nos grupos ED e CD. Todavia, não houve diferença estatística entre os grupos ED e CD, o que indica que não houve efeito do exercício.

Tabela 4- Número de focos de criptas aberrantes independentemente das regiões do intestino grosso dos grupos experimentais

Grupos	$FCA \leq 3$	$FCA > 3$
C (n =3)	0,00	0,00
CD (n =3)	$97,33 \pm 43,31^*$	$5,33 \pm 4,50$
ED (n =3)	$86,33 \pm 46,71^*$	$6,00 \pm 3,00$
E (n =3)	0,00	0,00

Dados expressos em média $\pm$ desvio-padrão. C = grupo controle; C = grupo controle e DMH; ED = grupo exercício e DMH; E = grupo exercício; e n = número de animais por grupo. * $p < 0,05$ vs $FCA > 3$.

Os FCAs são percebidos na mucosa, 15 dias após a aplicação do carcinógeno químico (BIRD et al., 1995). Como a eutanásia foi feita 21 dias após a indução, possivelmente, o tempo para proliferação não foi suficiente para que se desenvolvesse FCA com muitas criptas ($FCA > 3$).

Os dados apresentaram que o exercício prévio aplicado não foi protetor para as regiões medial e distal do intestino, mas também não promoveu o avanço das lesões pré-neoplásicas. Sugere-se que o exercício proteja contra a carcinogênese nas etapas iniciais do processo. Em contrapartida, outros estudos demonstraram a ocorrência de $FCA \leq 3$ reduzida nos grupos treinados comparados aos grupos controles (FUKU et al., 2007; LUNZ et al., 2008).

5.4. Enzimas antioxidantes

Os resultados da análise das enzimas antioxidantes SOD e CAT não diferiram entre os diferentes grupos experimentais, apresentando que nem o exercício nem a aplicação da droga interferiu na atividade das enzimas (Tabela 5).

Tabela 5- Atividade enzimática da superóxido dismutase e catalase obtidas de amostras de fígado de animais dos grupos experimentais, ao final do período experimental

Grupos	SOD (U/mg ⁻¹ proteína)	CAT (U/mg ⁻¹ proteína)
ED (n = 9)	0,276 ±0,02	0,524 ±0,15
E (n = 9)	0,248 ±0,06	0,557 ±0,18
C (n = 9)	0,274 ±0,05	0,634 ±0,08
CD (n = 9)	0,218 ±0,05	0,540 ±0,10

Dados expressos em média ± desvio-padrão. ED = grupo exercício e DMH; E = grupo exercício; C = grupo controle; CD = grupo controle e DMH; SOD = superóxido dismutase; e CAT = catalase.

Os resultados sobre a análise hepática das enzimas CAT e SOD revelaram que os parâmetros oxidativos não sofreram interferência significativa nem do exercício nem da indução do câncer. Um aumento dessa atividade poderia possivelmente levar à redução das lesões pré-neoplásicas no processo inicial da carcinogênese do cólon; no entanto, nenhuma diferença foi encontrada nesses parâmetros. O exercício aumenta os radicais livres em resposta à utilização de oxigênio. Em contrapartida, o sistema de defesa oxidativo poderia aumentar sua atividade para conter o dano oxidativo (DA SILVA et al., 2010). Há evidência que o exercício crônico eleva os níveis de enzimas anti-oxidantes no sangue, nos órgãos internos e no músculo esquelético de ratos com câncer experimental (AOI et al., 2010). Esse mecanismo de defesa do organismo protege contra danos no DNA e nas proteínas causados por espécies reativas.

Os resultados evidenciados na literatura são contraditórios, apresentando diferentes efeitos do exercício na capacidade antioxidante do fígado. Da Silva e colaboradores (2010) mostraram que a atividade da SOD no tecido hepático aumentou e a atividade da CAT foi reduzida nos grupos de exercício contínuo e excêntrico, quando comparada aos dos grupos não treinados e treinados, em atividade intermitente. Frajacomo (2010) demonstrou que o exercício não alterou a GSH no fígado de ratos com câncer experimental. Neste estudo, a enzima GSH não foi analisada, talvez a

avaliação de outras enzimas de reparo de danos oxidativos ou até mesmo outros marcadores de danos oxidativos poderiam ajudar a explicar os resultados encontrados.

A intensidade também é outro fator que interfere nas respostas oxidativas; entretanto, nem mesmo a utilizada no protocolo deste estudo, acima do limiar de lactato, que é considerada alta, apresentou diferença nos padrões oxidativos no fígado entre os grupos experimentais. A avaliação das defesas oxidativas no tecido hepático se faz importante, visto que o fígado é considerado o maior órgão metabólico, responsável pela destoxificação de várias substâncias, até mesmo produtos metabólicos nocivos resultantes do metabolismo de outros órgãos.

A avaliação em outros tecidos também é sugerida na literatura. No estudo de Aoi e colaboradores (2010), nenhuma diferença foi encontrada na expressão de SOD no tecido do cólon de camundongos tratados com AOM; porém, a expressão de CAT foi aumentada pelo AOM, mas não foi alterada pelo exercício.

As controvérsias sobre os efeitos do exercício sobre a capacidade antioxidante hepática são inúmeras, provavelmente, por causa das diferenças entre a intensidade do exercício e tempo da sessão, fatores esses de estresse físico dos protocolos de atividade física (ALESSIO; GOLDFARB, 1998). Pode-se observar, neste estudo, que as variáveis relacionadas ao estresse oxidativo não foram suficientes para determinar diferenças estatísticas significantes, em razão do protocolo de exercício ou tempo de destreinamento. Visto que a eutanásia foi realizada na 13ª semana de experimento, os animais permaneceram em destreinamento por cinco semanas, tempo esse que pode ter sido suficiente para redução de parâmetros metabólicos relacionados ao mecanismo de defesa antioxidante. Em relação à indução do câncer, os animais, provavelmente, ainda se adaptavam à droga, quando sofreram eutanásia, não havendo tempo suficiente para aumentar as enzimas antioxidantes, decorrentes do estímulo químico da DMH.

5.5. Histomorfometria das criptas intestinais

Os resultados das medidas de comprimento e largura das criptas intestinais não apresentaram diferença entre os grupos experimentais (Tabela 6).

Tabela 6- Morfometria da região medial do cólon de animais dos grupos experimentais ao final do período experimental

Grupos	Comprimento Cripta (μm)	Largura Cripta (μm)
C (n = 5)	350,35 $\pm$ 43,54	55,54 $\pm$ 7,13
CD (n = 5)	382,79 $\pm$ 47,59	59,91 $\pm$ 13,05
ED (n = 5)	400,48 $\pm$ 69,63	62,67 $\pm$ 6,74
E (n = 5)	320,92 $\pm$ 21,58	56,36 $\pm$ 5,93

Dados expressos em média $\pm$ desvio-padrão. ED = grupo exercício e DMH; E = grupo exercício; C = grupo controle; CD = grupo controle e DMH; e μm = micrômetros.

As análises histológicas permitem visualizar a preservação da estrutura, a integridade da mucosa intestinal e a presença ou não de hiperplasia de células epiteliais, com o objetivo de compensar as perdas das regiões apicais da cripta que ocorrem a cada cinco a seis dias (GUYTON; HALL, 2006). Nenhum estudo que tivesse avaliado a morfologia da cripta em relação ao comprimento e largura foi encontrado. Os resultados deste trabalho apresentaram que nem o exercício nem a aplicação do carcinógeno alterou esse parâmetro, o que indica que nenhuma desestruturação da mucosa foi encontrada pelos diferentes tratamentos. Provavelmente um processo inflamatório muito severo traria algum prejuízo para a integridade da mucosa; no entanto, neste estudo nem o exercício nem a aplicação do carcinógeno foi capaz de modificar esse parâmetro.

Mais estudos devem ser feitos, a fim de esclarecer os efeitos do exercício na estrutura e morfologia do tecido intestinal, em um processo de carcinogênese, com diferentes intensidades, protocolos e períodos experimentais, o que poderá contribuir no avanço do entendimento dos benefícios de um estilo de vida ativo na proteção da carcinogênese colorretal.

5.6. Linfócitos e outras células inflamatórias (eosinófilos/neutrófilos)

Nenhuma diferença foi encontrada na contagem de linfócitos na região medial do intestino, nos diferentes grupos experimentais (Tabela 7). Em relação à contagem de células inflamatórias, o grupo ED apresentou número maior dessas células, comparado ao grupo CD.

Tabela 7- Número de linfócitos e outras células inflamatórias (eosinófilos/neutrófilos) na região medial do cólon de animais dos grupos experimentais

Grupos	Linfócitos	Outras células inflamatórias
C (n = 5)	75,80 ±17,16	416,00 ±58,80
CD (n = 5)	46,80 ±9,36	317,60 ±46,33
ED (n = 5)	96,40 ±46,87	518,20 ±114,44*
E (n = 5)	88,80 ±33,89	420,40 ±61,37

Dados expressos em média ± desvio padrão. C = grupo controle; CD = grupo controle e DMH; ED = grupo exercício e DMH; e E = grupo exercício. * $p < 0,05$ vs CD.

Uma figura representativa da contagem de linfócitos e outras células inflamatórias (eosinófilos/neutrófilos) dos diferentes grupos experimentais está apresentada na figura 7.

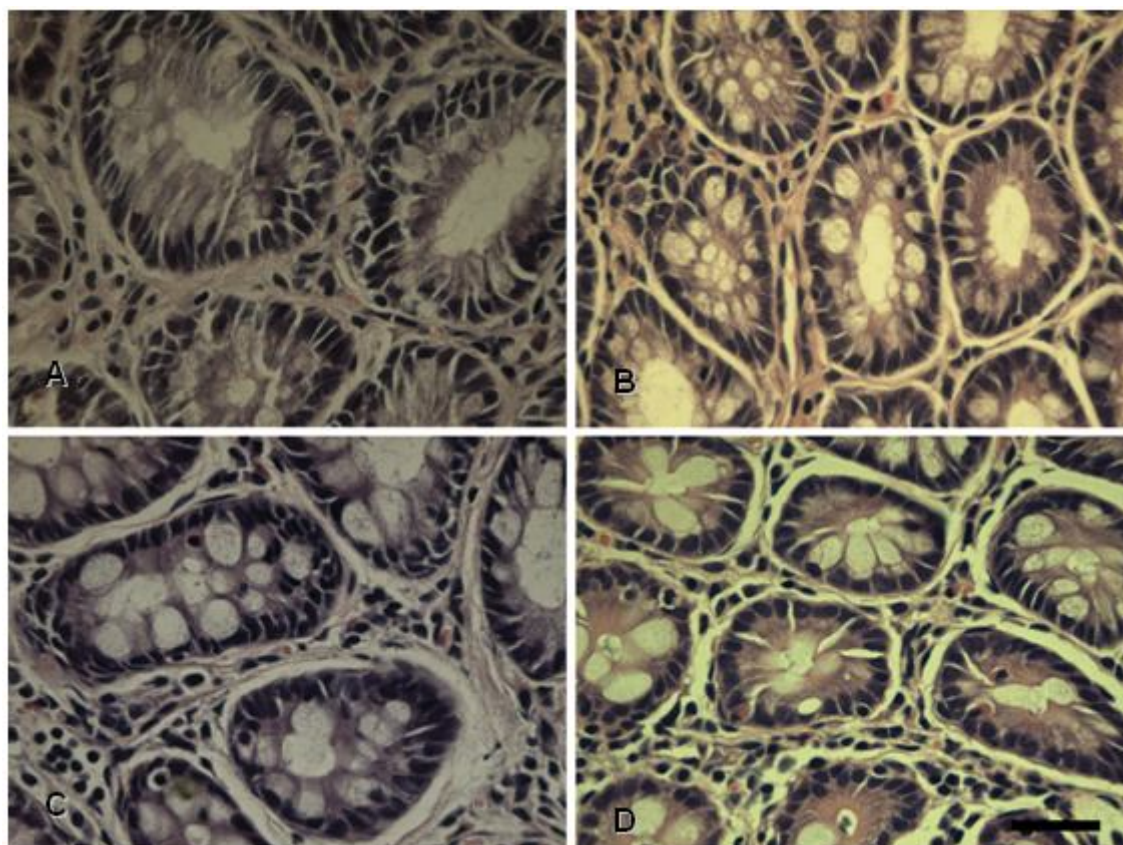


Figura 7- Fotomicrografia de secções histológicas do cólon medial do intestino grosso dos animais submetidos ao período experimental. A= grupo controle (C); B= grupo exercício (E); C= grupo controle e DMH (CD); e D= grupo exercício e DMH (ED). Coloração HE, aumento 400x, barra 20µm.

O exercício físico tem sido utilizado como intervenção terapêutica não farmacológica contra diversas doenças crônicas, dentre elas o câncer de cólon. O

exercício realizado de forma regular e de intensidade moderada apresenta efeitos moduladores sobre o câncer de cólon, dentre outras doenças com perfil inflamatório elevado (PEDERSEN; HOFFMAN-GOETZ., 2000).

Bacurau et al. (2007), em um estudo com alta intensidade, encontraram, aumento da expectativa de vida, redução do crescimento tumoral e melhora na função, na proliferação e no metabolismo de macrófagos e linfócitos, diferentemente da ideia de que alta intensidade de esforço pode aumentar a susceptibilidade à infecções, (NIEMAN et al., 1994). A atividade dos macrófagos pode inibir o crescimento tumoral e destruir células cancerosas com várias estratégias, que incluem produção de citocinas, quimiotaxia e aumento da fagocitose (LU et al., 1999).

Neste trabalho, os resultados encontraram aumento somente nas células inflamatórias eosinófilos e neutrófilos. Um aumento na produção de citocinas (IL-5, IL-6, IFN- γ), decorrentes do exercício pode aumentar a quimiotaxia, recrutando mais células do sistema imune para o compartimento intestinal, elevando o mecanismo de defesa (ROGERS et al., 2007).

A doença inflamatória do intestino está associada ao fator de risco para o câncer de cólon. Os mecanismos moleculares que a inflamação promove o desenvolvimento do câncer ainda estão sendo descobertos e podem diferir entre formas de câncer colorretal associada à colite e aos outros tipos de desenvolvimento da doença. O aumento encontrado neste trabalho, na contagem de células inflamatórias, pode desempenhar outro papel em relação ao processo, sendo na verdade, interpretado como promotores nas etapas de desenvolvimento da carcinogênese, por representar processo inflamatório (TERZIC et al., 2010).

Há uma aparente contradição na literatura sobre a atividade de linfócitos e células inflamatórias decorrente do estímulo do exercício. Diferenças nos protocolos, nas intensidades, nos níveis de condicionamento e, principalmente, no momento do sacrifício, imediatamente após a última sessão ou 24 horas após ou mais tempo (PEDERSEN; HOFFMAN-GOETZ, 2005), podem gerar efeitos diferentes.

6.0. CONCLUSÃO

A partir do treinamento em natação, com exercício acima do limiar de lactato prévio à carcinogênese experimental do cólon, em ratos *Wistar*, concluiu-se que:

Não houve alteração na contagem total dos FCAs, no entanto, quando a contagem foi separada por regiões, o exercício preveniu o aumento de FCA na região proximal.

Não houve modificação da atividade das enzimas antioxidantes no fígado desses animais.

Não houve mudança na morfologia das criptas intestinais dos animais.

Não houve alteração na contagem de linfócitos no intestino dos animais; entretanto, houve aumento na contagem de outras células inflamatórias (eosinófilos/neutrófilos) intestinais desses animais.

7.0. REFERÊNCIAS

Abbas, A. K; Lichtman, A. H. **Imunologia celular e molecular**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

Adamsen, L., M. Quist, C. Andersen, T. Moller, J. Herrstedt, D. Kronborg, M. T. Baadsgaard, K. Vistisen, J. Midtgaard, B. Christiansen, M. Stage, M. T. Kronborg e M. Rorth. Effect of a multimodal high intensity exercise intervention in cancer patients undergoing chemotherapy: randomised controlled trial. **BMJ**, v.339, p.3410. 2009.

Aebi, H. Catalase *in Vitro*. **Methods of Enzimology**, v.105, p.121-127, 1984.

Alessio, H. M.; Goldfarb, A. H. Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptative response to training. **Journal of Applied Physiology**, v. 64, p. 1333-1336, 1988.

Almeida, P. W.; A. Gomes-Filho, A. J. Ferreira, C. E. Rodrigues, M. F. Dias-Peixoto, R. C. Russo, M. M. Teixeira, G. D. Cassali, E. Ferreira, I. C. Santos, A. M. Garcia, E. Silami-Garcia, U. Wisloff e G. A. Pussieldi. Swim training suppresses tumor growth in mice. **J Appl Physiol**, v.107, n.1, p.261-5. 2009.

Andrianopoulos, G., Nelson, R. I., Bombeck, C. L., Souza, G. The influence of physical activity in 1,2-dimethylhydrazine induced colon carcinogenesis in the rat. **Anticancer res**, 7: 849-52, 1987.

Aoi, W., Y. Naito, T. Takagi, S. Kokura, K. Mizushima, Y. Takanami, Y. Kawai, Y. Tanimura, L. P. Hung, R. Koyama, H. Ichikawa e T. Yoshikawa. Regular exercise reduces colon tumorigenesis associated with suppression of iNOS. **Biochem Biophys Res Commun**, v.399, n.1, p.14-9.2010

Bacurau, A. V., M. A. Belmonte, F. Navarro, M. R. Moraes, F. L. Pontes, Jr., J. L. Pesquero, R. C. Araujo e R. F. Bacurau. Effect of a high-intensity exercise training on the metabolism and function of macrophages and lymphocytes of walker 256 tumor bearing rats. **Exp Biol Med (Maywood)**, v.232, n.10, p.1289-99. 2007.

Baltigalvis, K. A., F. G. Berger, M. M. Pena, J. M. Davis e J. A. Carson. Effect of exercise on biological pathways in ApcMin/+ mouse intestinal polyps. **J Appl Physiol**, v.104, n.4, p.1137-43. 2008.

Bird, R.P. and Good, C.K. The significance of aberrant crypt foci in understanding the pathogenesis of colon cancer. **Toxicol Lett**, v.112-113, p.395-402. 2000.

Bird, R. P. Observation and quantification of aberrant crypts in the murine colon treated with a colon carcinogen: preliminary findings. **Cancer Lett**, v.37, n.2, p.147-51. 1987.

Bird, R.P. Role of aberrant crypt foci in understanding the pathogenesis of colon cancer. **Cancer Lett**, v.93, n.1, p.55-71. 1995.

Campbell, K. L. e A. Mctiernan. Exercise and biomarkers for cancer prevention studies. **J Nutr**, v.137, n.1, p.161S-169S. 2007.

Carson, F.C; Martin, J.H; Lynn, J.A. Formalin fixation for electron microscopy: re-evaluation. **American journal of clinical pathology**. v.59, p.365-373, 1973.

Cheng, L. e M. D. Lai. Aberrant crypt foci as microscopic precursors of colorectal cancer. **World J Gastroenterol**, v.9, n.12, p.2642-9. 2003.

COBEA. Ethical Principles for the use of laboratory animals. Brazilian College on Animal Experimentation. 2009.

Colbert, L. H., J. M. Davis, D. A. Essig, A. Ghaffar e E. P. Mayer. Exercise and tumor development in a mouse predisposed to multiple intestinal adenomas. **Med Sci Sports Exerc**, v.32, n.10, p.1704-8. 2000.

Colbert, L. H., V. Mai, J. A. Tooze, S. N. Perkins, D. Berrigan e S. D. Hursting. Negative energy balance induced by voluntary wheel running inhibits polyp development in APCMin mice. **Carcinogenesis**, v.27, n.10, p.2103-7. 2006.

Colditz, G.A; Cannuscio, C.C; Frazier, A.L. Physical activity and reduced risk of colon cancer: implications for prevention. **Cancer causes and control**, v.8, p.649-667. 1997.

Corpet, D. E. e F. Pierre. Point: From animal models to prevention of colon cancer. Systematic review of chemoprevention in min mice and choice of the model system. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v.12, n.5, p.391-400. 2003.

Costa Rosa, L.F.P.B., Vaisberg, M.W. Influências do exercício na resposta imune. **Rev Bras Med Esporte**. Vol. 8, n.4, 2002.

Da Silva, L.A; Pinho, C.A; Rocha, L.G.C; Tuon, T; Silveira, P.C.L; Pinho, R.A. Effect of different models of physical on oxidative stress markers in mouse liver. **Applied Physiology in Nutrition and Metabolism**. v.37, p.1-7. 2009.

De Lima, C., L. E. Alves, F. Iagher, A. F. Machado, S. J. Bonatto, D. Kuczera, C. F. De Souza, D. C. Pequito, A. L. Muritiba, E. A. Nunes e L. C. Fernandes. 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.

Demarzo, M.M.P; Garcia, S.B. Exhaustive physical exercise increases the number of colonic preneoplastic lesions in untrained rats treated with a chemical carcinogen. **Cancer Letters**, v.216, p.31-34. 2004.

Demarzo, M.M.P; Martins, L.C; Fernandes, C.R; Herrero, F.A; Perez, S.E.A; Turatti, A; Garcia, S.B. Exercise reduces inflammation and cell proliferation in rat colon carcinogenesis. **Medicine and Science in Sports and Exercises**, p.618-621. 2008.

Droge, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiol Rev**, v.82, n.1, p.47-95. 2002.

Duncan, K., S. Harris e C. M. Ardies. Running exercise may reduce risk for lung and liver cancer by inducing activity of antioxidant and phase II enzymes. **Cancer Lett**, v.116, n.2, p.151-8. 1997.

Fairey, A. S., K. S. Courneya, C. J. Field e J. R. Mackey. Physical exercise and immune system function in cancer survivors: a comprehensive review and future directions. **Cancer**, v.94, n.2, p.539-51. 2002.

Fiocchi, C. Intestinal inflammation: a complex interplay of immune and non-immune cell interactions. **American of journal physiology**. v.273, p.769-775. 1997.

Foss, M. L., Keteyan, S. J. **Bases fisiológicas do exercício e do esporte**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

Frajacomo, F. T. T. Efeitos do exercício físico associado à luz contínua na carcinogênese colônica em ratos. Ribeirão Preto, 2010. [Dissertação apresentada ao

Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para o título de Mestre em Ciências Médicas].

Friedenreich, C. M. e M. R. Orenstein. Physical activity and cancer prevention: etiologic evidence and biological mechanisms. **J Nutr**, v.132, n.11, p.3456-3464. 2002.

Friedenreich, C. M. Physical activity and cancer prevention: from observational to intervention research. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**. v.10, p. 287-301. 2001.

Friedenreich, C. M., H. K. Neilson e B. M. Lynch. State of the epidemiological evidence on physical activity and cancer prevention. **Eur J Cancer**, v.46, n.14, p.2593-604.2010.

Fuku, N., M. Ochiai, S. Terada, E. Fujimoto, H. Nakagama e I. Tabata. Effect of running training on DMH-induced aberrant crypt foci in rat colon. **Med Sci Sports Exerc**, v.39, n.1, p.70-4. 2007.

Galvao, D. A. e R. U. Newton. Review of exercise intervention studies in cancer patients. **J Clin Oncol**, v.23, n.4, p.899-909. 2005.

Gleeson, M. e D. B. Pyne. Special feature for the Olympics: effects of exercise on the immune system: exercise effects on mucosal immunity. **Immunol Cell Biol**, v.78, n.5, p.536-44. 2000.

Gobatto, C. A., M. A. De Mello, C. Y. Sibuya, J. R. De Azevedo, L. A. Dos Santos e E. Kokubun. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol**, v.130, n.1, p.21-7. 2001.

Guyton A. C., Hall, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. Rio de Janeiro: 11.ed. Elsevier, 2006.

Halliwell B, Gutteridge J.M.C. **Free radicals in biology and medicine**. 3 ed. New York: Oxford, 1996.

Hardman, A. E. Physical activity and cancer risk. **Proc Nutr Soc**, v.60, n.1, p.107-13. 2001.

Harriss, D. J., N. T. Cable, K. George, T. Reilly, A. G. Renehan e N. Haboubi. Physical activity before and after diagnosis of colorectal cancer: disease risk, clinical outcomes, response pathways and biomarkers. **Sports Med**, v.37, n.11, p.947-60. 2007.

Hoffman-Goetz, L. e J. Quadrilatero. Treadmill exercise in mice increases intestinal lymphocyte loss via apoptosis. **Acta Physiol Scand**, v.179, n.3, p.289-97. 2003.

Hoffman-Goetz, L. Exercise, natural immunity, and tumor metastasis. **Med Sci Sports Exerc**, v.26, n.2, p.157-63. 1994.

Hoffman-Goetz, L. Physical activity and cancer prevention: animal-tumor models. **Med Sci Sports Exerc**, v.35, n.11, p.1828-33. 2003.

Hoffman-Goetz, L.; Pedersen, B.K. Exercise and the immune system: a model of the stress response? **Immunology today**, v.15, p.382-387, 1994.

Hursting, S. D., L. M. Lashinger, L. H. Colbert, C. J. Rogers, K. W. Wheatley, N. P. Nunez, S. Mahabir, J. C. Barrett, M. R. Forman e S. N. Perkins. Energy balance and carcinogenesis: underlying pathways and targets for intervention. **Curr Cancer Drug Targets**, v.7, n.5, p.484-91. 2007.

internacional agency for research on câncer – IARC. World Cancer Day 2011: New physical activity guidance can help prevent breast, colon cancers. 2011. Disponível em: <http://www.iarc.fr/en/media-centre/pr/2011> [Acessado em 21 março de 2011].

Jones L.W., Eves N.E, Peppercorn J.R. Pre-exercise screening and prescription guidelines for cancer patients. www.thelancet.com/oncology Vol 11 October 2010.

Knutsen, L., M. Quist, J. Midtgaard, M. Rorth e L. Adamsen. Maximum physical capacity testing in cancer patients undergoing chemotherapy: qualitative findings from an exercise program. **Scand J Med Sci Sports**, v.16, n.6, p.403-11. 2006.

Lira, C.A.B., Vancini, R.L., Silva, A.C., Nouailhetas, V.L.A. Efeitos do Exercício Físico Sobre o Trato Gastrointestinal. **Rev Bras Med Esporte** – Vol. 14, n.1, 2008.

Lowry, O. H.; Rosebrough, N. J.; Farr, A. L.; Randall, R. J.. Protein measurement with folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.** v.193, p.265-75, 1951.

Lu, Q., M. A. Ceddia, E. A. Price, S. M. Ye e J. A. Woods. Chronic exercise increases macrophage-mediated tumor cytolysis in young and old mice. **Am J Physiol**, v.276, n.2, p.482-489. 1999.

Lundqvist, C.; Baranov, V.; Hammarström, S.; Athlin, L.; Hammarström, M. Intra-epithelial lymphocytes. Evidence for regional specialization and extrathymic T cell maturation in the human gut epithelium. **Int. Immunol.**, v.7, n.9, p.1473-87, 1996.

Lunz, W. Interferência do treinamento de natação com diferentes intensidades na carcinogênese experimental do cólon. Viçosa, 2006. [Dissertação apresentada ao Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa para obtenção do título de Mestre].

Lunz, W., Peluzio, M.C.G., Dias, C.M.G.C., Moreira, A.P.B., Natali, A.J. Long-term aerobic swimming training by rats reduces the number of aberrant crypt foci in 1,2-dimethylhydrazine-induced colon câncer. **Braz J Med Biol Res.** v.41, n.11, p.1000-1004, 2008.

McArdle, W. D., Katch, F. I., Katch, V. L. **Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano**. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2008.

Mctiernan, A. Intervention studies in exercise and cancer prevention. **Med Sci Sports Exerc**, v.35, n.11, p.1841-5. 2003.

Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **Estimativa 2010: incidência de câncer no Brasil** / Instituto Nacional do Câncer. – Rio de Janeiro: INCA, 2009. Brasil.

Newton, R. U. e D. A. Galvao. Exercise in prevention and management of cancer. **Curr Treat Options Oncol**, v.9, n.2-3, p.135-46. 2008.

Nieman, D. C. e B. K. Pedersen. Exercise and immune function. **Recent developments. Sports Med**, v.27, n.2, p.73-80. 1999.

Nieman, D.C. Exercise, upper respiratory tract infection and the immune system. **Medicine and Science in Sports and Exercises**. v.26, p.128-139, 1994.

Norlida, A. O. e K. S. Phang. Histomorphology of aberrant crypt foci in colorectal carcinoma. **Malays J Pathol**, v.32, n.2, p.111-6, 2010.

Oliveira E. C., Chaves-Dias, C. M. G. **Efeito do exercício físico moderado em modelo de carcinogênese de cólon em ratos Wistar**. Viçosa; 2003. Monografia apresentada à Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG, 2003.

Oliveira E.M; Ramires P.R; Lancha Junior A.H. Nutrição e Bioquímica do Exercício. **Rev. Paul. Educ. Fís.**, São Paulo, v.18, p.7-19, 2004.

Palanch, A.C., Alvares, E.P. Feeding manipulation elicits different proliferative responses in the gastrointestinal tract of suckling and weanling rats. **Braz. J**, v.31, n.4, p.453-592, 1998.

Parent, M. E., M. C. Rousseau, M. El-Zein, B. Latreille, M. Desy e J. Siemiatycki. Occupational and recreational physical activity during adult life and the risk of cancer among men. **Cancer Epidemiol**, v.35, n.2, p.151-9.2010.

Paschoal, V.C.P. Radicais Livres e exercício físico. **Journal of Biomolecular Medicine and Free Radicals**. v.4, n.1. p.20-26, 1998.

Pedersen, B. K. e L. Hoffman-Goetz. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. **Physiol Rev**, v.80, n.3, p.1055-81. 2000.

Peel, J.B; Sui, X; Matthews, C.E; Adams, S.A; Hébert, J.R; Hardin, J.W; Church, T.S; Blair, S.N. Cardiorespiratory fitness and digestive cancer mortality: findings from the aerobics center longitudinal study. **Cancer epidemiology biomarkers and prevention**. v.18, n.4, p.1111-1117. 2009.

Perse, M., R. Injac, B. Strukelj e A. Cerar. Effects of high-fat mixed-lipid diet and exercise on the antioxidant system in skeletal and cardiac muscles of rats with colon carcinoma. **Pharmacol Rep**, v.61, n.5, p.909-16. 2009.

Petersen, A.M.W., Pedersen, B.K. The anti-inflammatory effect of exercise. **The Journal of Applied Physiology**. v.98: p.1154–1162, 2005.

Pretlow, T. P., B. J. Barrow, W. S. Ashton, M. A. O'riordan, T. G. Pretlow, J. A. Jurcisek e T. A. Stellato. Aberrant crypts: putative preneoplastic foci in human colonic mucosa. **Cancer Res**, v.51, n.5, p.1564-7. 1991.

Pretlow, T. P., M. A. O'riordan, G. A. Somich, S. B. Amini e T. G. Pretlow. Aberrant crypts correlate with tumor incidence in F344 rats treated with azoxymethane and phytate. **Carcinogenesis**, v.13, n.9, p.1509-12. 1992.

Quadrilatero, J. e L. Hoffman-Goetz. Physical activity and colon cancer. A systematic review of potential mechanisms. **J Sports Med Phys Fitness**, v.43, n.2, p.121-38. 2003.

Quist, M., M. Rorth, M. Zacho, C. Andersen, T. Moeller, J. Midtgaard e L. Adamsen. High-intensity resistance and cardiovascular training improve physical capacity in cancer patients undergoing chemotherapy. **Scand J Med Sci Sports**, v.16, n.5, p.349-57. 2006.

Reddy, B. S., Sugie, S., Lowenfels, A. Effect of voluntary exercise on azoxymethano-induced colon carcinogenesis in male F344 rats. **Cancer Res**, v.48, 7079-7081, 1988.

Robbins e Cotran. **Patologia: Bases patológicas das doenças**. 8.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

Rodrigues, M.A.M; Silva, L.A.G; Salvadori, D.M.F; Camargo, J.L.V; Montenegro, M.R. Aberrant crypt foci and colon câncer: comparison between a short and médium term biossay for colon carcinogenesis using dimethylhydrazine in Wistar rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v.35, n.3, p.351-355, 2002.

Rogers, C. J., L. H. Colbert, J. W. Greiner, S. N. Perkins e S. D. Hursting. Physical activity and cancer prevention : pathways and targets for intervention. **Sports Med**, v.38, n.4, p.271-96. 2008.

Rogers, C.J., Berrigan, D.,Zaharoff, D.A., Hance, K.H., Patel, A.C., Perkins, S.N., Schlom, J., Greiner, J.W., Hursting, S.D. Energy Restriction and Exercise Differentially Enhance Components of Systemic and Mucosal Immunity in Mic. **The Journal of Nutritional Immunology**. v.138, p.115–122, 2008.

Roncucci, L., S. Modica, M. Pedroni, M. G. Tamassia, M. Ghidoni, L. Losi, R. Fante, C. Di Gregorio, A. Manenti, L. Gafa e M. Ponz De Leon. Aberrant crypt foci in patients with colorectal cancer. **Br J Cancer**, v.77, n.12, p.2343-8. 1998.

Rosenberg, D. W., C. Giardina e T. Tanaka. Mouse models for the study of colon carcinogenesis. **Carcinogenesis**, v.30, n.2, p.183-96. 2009.

Schmitz, K. H., K. S. Courneya, C. Matthews, W. Demark-Wahnefried, D. A. Galvao, B. M. Pinto, M. L. Irwin, K. Y. Wolin, R. J. Segal, A. Lucia, C. M. Schneider, V. E. Von Gruenigen e A. L. Schwartz. American College of Sports Medicine roundtable on exercise guidelines for cancer survivors. **Med Sci Sports Exerc**, v.42, n.7, p.1409-26, 2010.

Schneider C.D; Oliveira A.R. Radicais Livres de Oxigênio e Exercício: Mecanismos de Formação e Adaptação ao Treinamento Físico. **Rev Bras Med Esporte**, v.10, n. 4, p.308-313, 2004.

Silva, L.A; Ronsani, M.M; Souza, P.S; Severino, B.J; Fraga, D.B; Streck, E.I; Pinho, R.A. Comparação do treinamento físico de quatro e oito semanas sobre atividade da cadeia transportadora de elétrons e marcadores de estresse oxidativo em fígado de camundongos. **Revista brasileira de medicina do esporte**, v.16, n.2, p.126-129, 2010.

Silva, M.F; Sivieri, K; Rossi, E.A. Effects of a probiotic soy product and physical exercise on formation of pré-neoplastic lesions in rat colons in a short-term model of carcinogenic. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v.6, n.17, 2009.

Slattery, M. L. e J. D. Potter. Physical activity and colon cancer: confounding or interaction? **Med Sci Sports Exerc**, v.34, n.6, p.913-9. 2002.

Takayama, T., S. Katsuki, Y. Takahashi, M. Ohi, S. Nojiri, S. Sakamaki, J. Kato, K. Kogawa, H. Miyake e Y. Niitsu. Aberrant crypt foci of the colon as precursors of adenoma and cancer. **N Engl J Med**, v.339, n.18, p.1277-84. 1998.

Terzic, J., S. Grivennikov, E. Karin e M. Karin. Inflammation and colon cancer. **Gastroenterology**, v.138, n.6, p.2101-2114. 2010.

The World Health Organization's Fight Against Cancer: **Strategies That Prevent, Cure and Care**. World Health Organization, 2007.

Tiollier, E., D. Gomez-Merino, P. Burnat, J. C. Jouanin, C. Bourrilhon, E. Filaire, C. Y. Guezennec e M. Chennaoui. Intense training: mucosal immunity and incidence of respiratory infections. **Eur J Appl Physiol**, v.93, n.4, p.421-8. 2005.

Valdes-Ramos, R., B. E. Martinez-Carrillo, G. Aranda, Ii, A. L. Guadarrama, R. V. Pardo-Morales, P. Tlatempa e R. A. Jarillo-Luna. Diet, exercise and gut mucosal immunity. **Proc Nutr Soc**, v.69, n.4, p.644-50. 2010.

Venditti, P., Di Meo, S. Antioxidants, Tissue Damage, and Endurance in Trained and Untrained Young Male Rats. **Archives of biochemistry and biophysics**. v. 331, n.1, p. 63–68, 1996.

Weinberg, R.A. **A biologia do câncer**. Porto Alegre: Artmed, 2008.

World health organization: **global strategy on diet, physical activity and health**. WHO, 2003. [Acessado em 21 de março de 2011]. Disponível em <http://www.who.int/dietphysicalactivity/strategy/eb1344/en/index.html>.

Voltarelli, F. A., C. A. Gobatto e M. A. De Mello. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. **Braz J Med Biol Res**, v.35, n.11, p.1389-94. 2002.

Wagner, K. H., S. Reichhold, C. Holzl, S. Knasmüller, L. Nics, M. Meisel e O. Neubauer. Well-trained, healthy triathletes experience no adverse health risks regarding oxidative stress and DNA damage by participating in an ultra-endurance event. **Toxicology**, v.278, n.2, p.211-6, 2010.

Woods, J.A; Vieira, V.J; Keylock, K.T.Exercise, inflammation and innate immunity. **Neurologic clinics**, v.24, p.585-599, 2006.

103. Wargovich M.J., Brown V.R., Morris J. Aberrant Crypt Foci: The Case for Inclusion as a Biomarker for Colon Câncer. **Cancers**, v.2, p.1705-1716; 2010.

West, N. P., Pyne, D. B., Peake, J. M., Cripps, A. W. Probiotics, immunity and exercise: a review. **Exerc Immunol Rev**.v.15, p.107-26. 2009.

Westerlind, K. C. Physical activity and cancer prevention--mechanisms. **Med Sci Sports Exerc**, v.35, n.11, Nov, p.1834-40. 2002.

Winzer, B. M., D. C. Whiteman, M. M. Reeves e J. D. Paratz. Physical activity and cancer prevention: a systematic review of clinical trials. **Cancer Causes Control**, Apr 2011.

World Cancer Research Fund/ American Institute for Cancer Research-WCRF/AICR Food, Nutrition, Physical Activity and the Prevention of Cancer: a Global Perspective, 2007. Disponível em:< [http:// www. dietandcancerreport.org](http://www.dietandcancerreport.org)> [Acessado em 12 fevereiro de 2011].