

Efeitos da atividade física na histomorfometria muscular esquelética de modelo tumoral murino de caquexia

Effects of physical activity on skeletal muscle histomorphometry of murine cachexia tumor model

Tayrine Resende de Oliveira¹ João Vitor Nunes Lopes² Iaggo Raphael David³ Frederico Sander Mansur Machado⁴ Mariana Rocha Alves⁵ Alfredo Mauricio Batista de Paula⁶ Renato Sobral Monteiro Júnior⁷ Vinicius Dias Rodrigues⁸ ¹Universidade Estadual de Montes Claros (Montes Claros). Minas Gerais, Brasil. tayrineoliveirauni@gmail.com²Autor para correspondência. Faculdades Integradas do Norte de Minas (Montes Claros). Minas Gerais, Brasil. joaolopes@outlook.com.br³Universidade Paulista (Vitória da Conquista). Bahia, Brasil. iaggoraphaell@gmail.com^{4,6-8}Universidade Estadual de Montes Claros (Montes Claros). Minas Gerais, Brasil. machado.frederico@outlook.com, ambpatologi@gmail.com, monteirojuniorms@gmail.com, viniciuslabex@hotmail.com⁵Universidade Federal Fluminense (Montes Claros). Minas Gerais, Brasil. marianarochaalves13@gmail.com

RESUMO | INTRODUÇÃO: A caquexia associada ao câncer (CAC) é uma síndrome paraneoplásica que ocorre com indivíduos com câncer que é caracterizada pela diminuição gradual de tecidos muscular esquelética e de tecido adiposo, promovendo um quadro de consumação física do indivíduo. A ocorrência de CAC determina de forma significativa a uma pior qualidade de vida e de sobrevivência de indivíduos com câncer. A CAC não pode ser revertida pelo amparo nutricional convencional. Tratamentos não-farmacológicos empregados para a CAC tem reportado a realização de atividade física para possibilitar adaptações neurais e de hipertrofia muscular em indivíduos com a síndrome. **OBJETIVO:** Verificar os efeitos da atividade física em ambiente enriquecido na histomorfometria da musculatura esquelética de camundongos C57BL/6 submetidos ao modelo tumoral murino de caquexia associada ao câncer (CAC). **MÉTODOS:** Foram utilizados 38 camundongos C57BL/6 fêmeas, distribuídos aleatoriamente nos grupos de estudo. Todos os animais foram submetidos ao modelo tumoral murino singênico de Melanoma Cutâneo (MTMSMC) com a inoculação subcutânea de células B16F10. Os grupos de estudo são animais do experimento diagnóstico CRC (n = 12), animais sedentários (n = 11) e animais submetidos à prática de atividade física em ambiente enriquecido (n = 15). O seguimento do estudo ocorreu por um período de dez dias. Após esse momento, todos os animais foram sacrificados e amostras de tecido muscular esquelético do gastrocnêmio foram submetidas às análises histomorfométricas. **RESULTADOS:** Os resultados da análise inferencial do peso absoluto e relativo muscular esquelético não diferiram entre os grupos do estudo. Todas as comparações das variáveis apresentaram tamanho do efeito pequeno. A análise histomorfométrica muscular revelou que a área da fibra muscular não diferiu entre os grupos do estudo. Contudo, essa área muscular, apresentou tamanho do efeito pequeno. **CONCLUSÃO:** Os resultados apresentados mostraram que a realização de atividade física no ambiente enriquecido não influenciou na área da fibra do músculo do gastrocnêmio de camundongos C57BL/6 submetidos ao MTMSMC, associada à CAC.

PALAVRAS-CHAVE: Roedores. Câncer. Sarcopenia. Atividade locomotora.

Submetido 24/08/2020, Aceito 20/11/2020, Publicado 27/11/2020
Rev. Pesqui. Fisioter., Salvador, 2020 Novembro;10(4):642-647
Doi: [10.17267/2238-2704rpf.v10i4.3053](https://doi.org/10.17267/2238-2704rpf.v10i4.3053) | ISSN: 2238-2704
Editoras responsáveis: Cristiane Dias, Katia Sá

ABSTRACT | INTRODUCTION: Cancer-associated cachexia (CAC) is a paraneoplastic syndrome that occurs in individuals with cancer, which is characterized by the gradual decrease in skeletal muscle and fat tissue, promoting an individual's physical consumption. The occurrence of CAC significantly determines a worse quality of life and survival for individuals with cancer. CAC cannot be reversed by conventional nutritional support. Non-pharmacological treatments used for CAC have reported physical activity to enable neural adaptations and muscle hypertrophy in individuals with the syndrome. **OBJECTIVE:** To verify the effects of physical activity in an enriched environment on the histomorphometry of skeletal musculature of C57BL/6 mice submitted to the murine tumor model of cancer-associated cachexia (CAC). **METHODS:** 38 female C57BL/6 mice were used, randomly distributed in groups of study. All animals were subjected to the cutaneous murine tumor model of Cutaneous Melanoma (MTMSMC) with subcutaneous inoculation of B16F10 cells. The study groups are CRC diagnostic experiment animals (n = 12), sedentary animals (n = 11) and animals submitted to physical activity in an enriched environment (n = 15). The study was followed up for a period of ten days. After that moment, all animals were sacrificed and samples of skeletal muscle tissue from the gastrocnemius were submitted to histomorphometric analyzes. **RESULTS:** The results of inferential analysis of absolute and relative skeletal muscle weight did not differ between the study groups. All comparisons of the variables showed a small effect size. Muscle histomorphometric analysis revealed that the muscle fiber area did not differ between the study groups. However, this muscular area had a small effect size. **CONCLUSION:** The results presented showed that physical activity in the enriched environment did not influence the fiber area of the gastrocnemius muscle of C57BL/6 mice submitted to MTMSMC, associated with CAC.

KEYWORDS: Rodents. Cancer. Sarcopenia. Locomotive activity.

Como citar este artigo: Oliveira TR, Lopes JVN, David IR, Machado FSM, Alves MR, Paula AMB et al. Efeitos da atividade física na histomorfometria muscular esquelética de modelo tumoral murino de caquexia. Rev Pesqui Fisioter. 2020;10(4):642-647. doi: 10.17267/2238-2704rpf.v10i4.3253



Um tipo de câncer com alta incidência no mundo, é o Melanoma cutâneo¹⁻⁴, que segundo Zacharias et al.⁵, promove o desenvolvimento acelerado da metástase. Barnhill⁶ afirmou que uma pequena pigmentação sobre a pele normal exposta ao sol, pode ser sinal de um pequeno tumor do melanoma. Um prognóstico negativo é o desenvolvimento de uma síndrome multifatorial que é caracterizada pela perda de tecido muscular esquelético e adiposo, chamado de caquexia⁷. Quando verificado a literatura científica, as possibilidades não farmacológicas para o tratamento da caquexia associada ao câncer não possuem informações suficientes sobre o assunto.

Perez-Leighton, et al.⁸ realizaram a junção da atividade física espontânea com o ambiente enriquecido, metodologia pensada para roedores, permitindo a movimentação involuntária sem controle severo da intensidade da atividade. Vários são os exemplos sobre ambiente enriquecido, podendo destacar, a utilização de objetos como forma de brinquedos, para possibilitar a exploração do lugar, importante salientar que essa junção traz melhoria na neurogênese e fatores neurotróficos⁹.

No estudo realizado por Rodrigues, et al.¹⁰ relata melhora expressiva na força muscular e volume do membro traseiro direito, utilizando o modelo de atividade física com animais, fato que aponta uma possibilidade metodológica de atividade física com experimentação utilizando modelo animal.

Apesar dessa possibilidade metodológica de atividade física, não tem na literatura estudos que mostrem efeitos dessa atividade no quadro caquético associado ao câncer. Desta forma o objetivo deste estudo foi verificar os efeitos da atividade física em ambiente enriquecido na histomorfometria do músculo gastrocnêmio de camundongos C57BL/6 com caquexia associada ao modelo tumoral singênico de melanoma cutâneo.

Aspectos éticos

O presente estudo foi analítico, prospectivo e de abordagem quantitativa. Ocorreu indução tumoral de células B16-F10 da linhagem de melanoma cutâneo em todos os animais desse estudo. O trabalho foi submetido para análise por um comitê de ética em experimentação animal e bem-estar e teve parecer favorável para execução. Importante salientar que todos os experimentos ocorreram após sistemática preparação da equipe de pesquisa para ocorrer controle total das ações que envolvem um estudo experimental. O trabalho foi submetido à análise por um comitê de ética em experimentação animal e bem-estar (CEEBA/Unimontes) e teve parecer favorável para execução (131/2017).

Grupos de estudos

Foram utilizados 38 camundongos C57BL/6 fêmeas, os quais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos com duas fases distintas do estudo. Na primeira fase do estudo, utilizou 12 animais para caracterização do quadro caquético. Posteriormente iniciou a segunda fase do estudo com o grupo sedentário (CRC) (n=11), não realizou nenhum tipo de intervenção (permanecia na caixa de alojamento), o grupo experimental (CRC-ATF) (n=15), realizou atividade física em ambiente enriquecido. O grupo CRC teve uma quantidade de animais menor, pois ocorreu óbito de 4 roedores durante o experimento. O quantitativo de animais teve com base para arbitrariedade no quantitativo escolhido o estudo realizado por Rodrigues, et al.¹⁰.

Modelo tumoral murino singênico

Os animais foram submetidos ao modelo tumoral murino singênico de Melanoma cutâneo (MTMSMC). Brevemente, os animais foram inoculados no subcutâneo com 5×10^5 células de células murinas de melanoma cutâneo B16-F10, ressuspensas em 50 μ L, na região subcutânea dorsal, próxima à base do pescoço (flanco). A inoculação dessa quantidade de células viáveis na região subcutânea tem a capacidade de concluir um ciclo mitótico em 24h e de desenvolver o tumor no prazo de 3-4 dias^{11,12}.

Ambiente enriquecido para atividade física

Com a finalidade de familiarizar os animais à intervenção com o ambiente enriquecido, previamente à indução tumoral, ocorreram duas sessões de 30 minutos de atividade física (AF) nesse contexto. Importante salientar que não foi controlado as variáveis estruturais (velocidade, tempo em movimento, entre outras) durante o experimento.

A atividade física foi organizada em um ambiente enriquecido de 60 cm de comprimento, 30 cm de largura e 45 cm de altura. Esse ambiente continha gangorra, rodas, bolas e túneis (10). A intervenção foi composta por 7 sessões de exposição por 30 minutos, com intervalos de 48 horas, totalizando 14 dias de experimentação. A intervenção com atividade física no ambiente enriquecido ocorreu após diagnóstico de caquexia.

Diagnóstico da caquexia associada ao câncer

O diagnóstico de caquexia foi estabelecido assim que os camundongos submetidos ao MTMSC mostraram uma perda de pelo menos 5% do peso corporal, desconsiderando-se o peso do tumor, durante a progressão do tumor¹³. Uma equação de regressão linear foi usada para definir a relação entre o volume do tumor e o peso do tumor. As medições foram realizadas em 12 dias após a inoculação de células tumorais em uma amostra de 12 animais, a fim de calcular o peso do tumor durante todo o experimento. A cada dia, um camundongo foi sacrificado e o volume do tumor (mm³) e a massa (g) foram medidos para se obter a caracterização e progressão dos tumores¹⁴. Ao final do experimento, os dados foram obtidos de diferentes estágios tumorais e a relação entre massa e volume foi definida na equação linear ($R^2 = 0,9892$). Uma vez definida a medida do peso do tumor, esses valores foram subtraídos da medida do peso corporal de cada animal por dia. Dessa forma, após realização do experimento de diagnóstico da caquexia, foi estabelecido o décimo dia para o diagnóstico de caquexia após a indução tumoral para todos os animais, assim, o grupo experimental iniciou a intervenção, a cada sessão eles tinham 48 horas de intervalo para a próxima sessão. Após a sétima sessão os animais sobreviventes foram submetidos a eutanásia^{11,12}.

Amostras biológicas

Após 26 dias do início do experimento todos os 26 animais do grupo controle e experimental foram anestesiados com cetamina/xilazina (75 mg/kg e 5 mg/kg, respectivamente) e submetidos a eutanásia por luxação cervical^{13,14} para realizar a coleta de tecidos musculares esqueléticos do gastrocnêmio. Os tecidos coletados foram pesados usando uma balança digital de precisão analítica (A. Científica EEQ9003E)^{10,13}.

Amostras biológicas colhidas (músculo gastrocnêmio) foram pesados individualmente, seccionados e colocados parte em solução fixadora de paraformaldeído 4% (p:v), tempo de fixação de 4h, à temperatura ambiente e parte em RNA *holder* e *tissue tek* para congelamento a -80° C. As amostras fixadas em solução de formalina tamponada a 4% foram bloqueadas em parafina e submetidas a cortes microscópicos para a realização dos estudos morfométricos.

Análise histomorfométrica muscular

Os músculos gastrocnêmicos traseiros direito foram bloqueados em parafina e microseccionados a $7\mu\text{m}$ e marcados com Hematoxilina-Eosina (HE). Secções dos músculos esqueléticos foram feitas a 90o e 180o para o eixo longitudinal das fibras musculares. Três distintos locais (lâminas histológicas) do tecido muscular esquelético indicados aleatoriamente na visualização foram fotografados. Secções do tecido foram fotografados usando um microscópio *Olympus BX50* (Olympus Corp., JAP). A área da fibra muscular transversal foi medida usando o software *Image J* (imagej.nih.gov). Todos os dados foram expressos como a média \pm SEM.

Análises estatísticas

Os dados coletados foram analisados estatisticamente no software SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 20.0. O nível de confiança adotado em todas as análises foi fixado em 95% ($p < 0,05$). Foi realizado o teste de *Shapiro-Wilk* para verificação da normalidade, posteriormente foi selecionado o teste T de *Student* independente para análise inferencial das variáveis dependentes. Também foi calculado o tamanho do efeito e classificado de acordo com Cohen¹⁵.

Resultados

Os resultados da tabela 1 mostram a análise inferencial do peso absoluto e relativo do músculo gastrocnêmio, não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos. Além disso, todas as comparações das variáveis apresentaram tamanho do efeito pequeno de acordo com Cohen¹⁵. As médias dos grupos foram comparadas usando o teste T de *Student* independente.

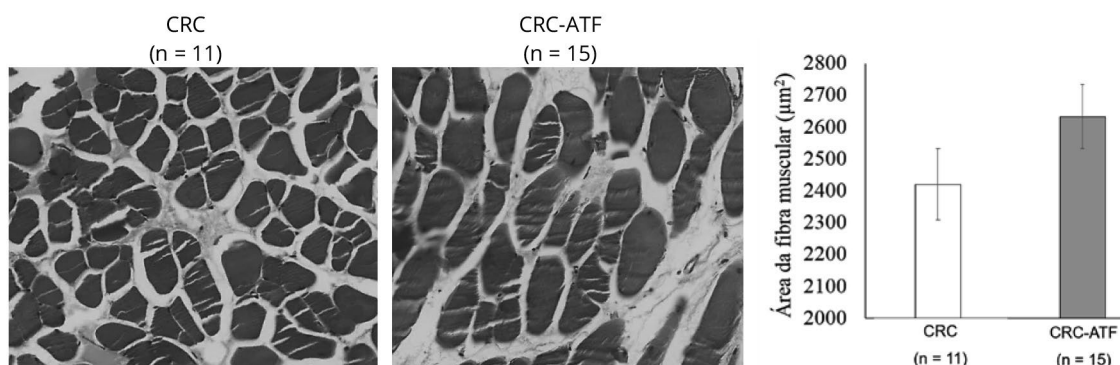
Tabela 1. Análise inferencial do peso absoluto e relativo do músculo gastrocnêmio do membro traseiro direito dos camundongos C57BL/6 do modelo tumoral singênico murino de melanoma cutâneo e com ocorrência de caquexia

| Variáveis | CRC (n = 11) | CRC-ATF (n = 15) | Valor de p | TE |
|-------------------------------|--------------|------------------|------------|----------|
| Peso corporal (g) | 20,22 ± 1,72 | 19,82 ± 2,70 | 0,666 | P (0,01) |
| Peso do mús. gastrocnêmio (g) | 0,13 ± 0,05 | 0,13 ± 0,04 | 0,529 | P (0,02) |
| Peso do mús. gastrocnêmio (%) | 0,68 ± 0,19 | 0,66 ± 0,13 | 0,565 | P (0,01) |

*TE=Tamanho do efeito ** P = Pequeno

Os resultados da figura 1 mostram a análise histomorfométrica da área da fibra do músculo gastrocnêmio, na análise inferencial não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos, entretanto, foi verificado o tamanho do efeito pequeno de acordo com Cohen (15). A análise inferencial utilizando o teste T de *Student* independente não mostra diferença significativa entre os grupos, além disso, foi verificado o tamanho do efeito pequeno (0,21).

Figura 1. Análise histomorfométrica da área da fibra do músculo gastrocnêmio do membro traseiro direito de camundongos C57BL/6 do modelo tumoral singênico murino de melanoma cutâneo e com ocorrência de caquexia submetidos a atividade física em ambiente enriquecido e controles



Discussão

Os achados desse estudo mostram que a atividade física em ambiente enriquecido nos camundongos C57BL/6 com caquexia associada ao modelo tumoral singênico murino de melanoma cutâneo não tem contribuição nas variáveis morfológicas e histomorfométricas analisadas.

No estudo realizado por Rodrigues, et al. (2019)¹⁰ foi demonstrado que o modelo de atividade física em ambiente enriquecido utilizando camundongos C57BL/6 saudáveis apresentou melhoras, expressivas, na força muscular e volume do membro traseiro direito, tal pesquisa, apresenta uma possibilidade metodológica de atividade física com camundongos C57BL/6.

A atrofia muscular na caquexia associada ao câncer ocorre em função do quadro inflamatório¹⁶, provocado pela indução e aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL-6)^{16,17}, isso promove uma ampliação do estresse oxidativo¹⁸ e aumento do catabolismo proteico em função do sistema ubiquitina proteassoma¹⁹.

O desfecho do nosso estudo não resultou em implicações expressivas, não significativas, possivelmente devido à pouca quantidade de sessões realizadas após o quadro caquético, importante salientar que as características treináveis, quando não controladas adequadamente, podem impactar negativamente nas adaptações morfológicas²⁰.

Os resultados possíveis com mais sessões da atividade física em ambiente enriquecido poderiam mostrar possibilidade de proteção da estrutura muscular, provavelmente, em função da atividade física promover o aumento de enzimas antioxidantes (Glutathione peroxidase, Mn-SOD mitocondrial e Superóxido), favorecendo antagonicamente no quadro de atrofia muscular²¹⁻²³.

Pensando na preservação do tecido muscular, o trabalho de Ballarò, et al. (2019)²⁴ apresenta a investigação em função do estresse oxidativo na presença e ausência de treinamento aeróbico moderado em camundongos caquéticos albinos Balb/c com carcinoma colorretal, assim, o exercício moderado utilizado na intervenção experimental mostrou capaz de amenizar a diminuição da massa muscular e evitar a

perda de força muscular, tal situação foi associada a redução níveis de espécies reativas de oxigênio.

O projeto no qual esse estudo pertence são os primeiros passos para entender os efeitos da atividade física em ambiente enriquecido nos camundongos C57BL/6 submetidos ao MTMSMC associado à CAC. Porém, esse estudo apresentou limitação (falta de um grupo controle com a prática da atividade física em ambiente enriquecido) que podem ter influenciado nos resultados, e no potencial que a temática pode ainda contribuir para o entendimento do assunto.

Conclusões

Os resultados desse estudo demonstram que a realização de atividade física no ambiente enriquecido não influenciou no peso corporal (g), peso do mús. gastrocnêmio (g), peso do mús. gastrocnêmio (%) e área da fibra do músculo gastrocnêmio de camundongos C57BL/6 submetidos ao MTMSMC, associada à CAC.

Agradecimentos

Agradecemos a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig, processos PPM-00029-17 e DEG-00010-16) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, processos 437311/2016-3 e 430759/2016-9), e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes).

Contribuições dos autores

Oliveira TR participou da coleta de dados e do manejo animal. Lopes JVN participou da escrita do artigo. Melo WCMA, Alves MR participaram do delineamento estatístico. David IR participou do manejo animal. Machado FSM participou da análise de laboratório. De Paula AMB participou do delineamento estatístico, coleta de dados. Monteiro Júnior RS participou do delineamento estatístico, manejo animal. Rodrigues VD coordenou a pesquisa e a escrita do artigo.

Conflitos de interesses

Nenhum conflito financeiro, legal ou político envolvendo terceiros (governo, empresas e fundações privadas, etc.) foi declarado para nenhum aspecto do trabalho submetido (incluindo, mas não se limitando a subvenções e financiamentos, participação em conselho consultivo, desenho de estudo, preparação de manuscrito, análise estatística, etc.).

Referências

1. Instituto Nacional de Câncer. ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer [Internet]. 2011 [acesso 2019 abr.15]. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvsm/publicacoes/inca/abc_do_cancer_2ed.pdf
2. Linhares S, Gewandsznajder F. *Biologia hoje*. São Paulo: Ática; 2010.
3. Cavalieri V, Spinelli G. Environmental epigenetics in zebrafish. *Epigenetics Chromatin*. 2017;10(1):46. doi: [10.1186/s13072-017-0154-0](https://doi.org/10.1186/s13072-017-0154-0)
4. Pollock RE, Doroshow JH, Khayat D, Nakao A, O'Sullivan B. *UICC manual de oncologia clínica*. 8.ed. São Paulo: Fundação Oncocentro de São Paulo; 2006.
5. Mélega JM. *Cirurgia plástica fundamentos e arte: princípios gerais*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2009.
6. Barnhill RL. Criteria for diagnosis and classification of melanoma. *Pathology of Malignant Melanoma*: Springer; 2004. P. 2-12.
7. Fearon K, Strasser F, Anker SD, Bosaeus I, Bruera E, Fainsinger RL et al. Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus. *Lancet Oncol*. 2011;12(5):489-95. doi: [10.1016/S1470-2045\(10\)70218-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(10)70218-7)
8. Perez-Leighton C, Grace M, Billington CJ, Kotz CM. Role of spontaneous physical activity in prediction of susceptibility to activity based anorexia in male and female rats. *Physiol Behav*. 2014;135:104-11. doi: [10.1016/j.physbeh.2014.06.001](https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.06.001)
9. During MJ, Liu X, Huang W, Magee D, Slater A, McMurphy T et al. Adipose VEGF links the white-to-brown fat switch with environmental, genetic, and pharmacological stimuli in male mice. *Endocrinology*. 2015;156(6):2059-73. doi: [10.1210/en.2014-1905](https://doi.org/10.1210/en.2014-1905)
10. Rodrigues VD, Pimentel DM, Brito AS, Vieira MM, Santos AR, Machado AS et al. Methodological validation of a vertical ladder with low intensity shock stimulus for resistance training in C57BL/6 mice: Effects on muscle mass and strength, body composition, and lactate plasma levels. *J Hum Sport Exerc*. 2019;14(3):608-631. doi: [10.14198/jhse.2019.143.12](https://doi.org/10.14198/jhse.2019.143.12)
11. Berkelhammer J, Oxenhandler RW, Hook RR, Hennessy JM. Development of a new melanoma model in C57BL/6 mice. *Cancer Re*. 1982;42(8):3157-63.
12. Trunova GV, Makarova OV, Diatroptov ME, Bogdanova IM, Mikchailova LP, Abdulaeva SO. Morphofunctional characteristic of the immune system in BALB/c and C57BL/6 mice. *Bull Exp Biol Med*. 2011;151(1):99-102. doi: [10.1007/s10517-011-1268-1](https://doi.org/10.1007/s10517-011-1268-1)
13. Voltarelli FA, Frajacomio FT, Padilha CS, Testa MTJ, Cella PS, Ribeiro DF et al. Syngeneic B16F10 melanoma causes cachexia and impaired skeletal muscle strength and locomotor activity in mice. *Frontiers in physiology*. 2017;8:715. doi: [10.3389/fphys.2017.00715](https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00715)
14. Honors MA, Kinzig KP. Characterization of the Yoshida sarcoma: a model of cancer cachexia. *Supportive Care in Cancer*. 2013;21(10):2687-94. doi: [10.1007/s00520-013-1839-y](https://doi.org/10.1007/s00520-013-1839-y)
15. Cohen, J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences*. Routledge; 1988.
16. Hopkins W, Marshall SW, Batterham AM, Hanin J. *Progressive statistics for studies in sports medicine and exercise science*. *Med Sci Sports Exerc*. 2009;41(1):3-13. doi: [10.1249/MSS.0b013e31818cb278](https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e31818cb278)
17. Tisdale MJ. Cachexia in cancer patients. *Nat Rev Cancer*. 2002;2(11):862-71. doi: [10.1038/nrc927](https://doi.org/10.1038/nrc927)
18. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radic Biol Med*. 2010;49(11):1603-16. doi: [10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006)
19. Barreiro E, La Puente B, Busquets S, López-Soriano FJ, Gea J, Argilés JM. Both oxidative and nitrosative stress are associated with muscle wasting in tumour-bearing rats. *FEBS Lett*. 2005;579(7):1646-52. doi: [10.1016/j.febslet.2005.02.017](https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.02.017)
20. Gomes-Marcondes MCC, Tisdale MJ. Induction of protein catabolism and the ubiquitin-proteasome pathway by mild oxidative stress. *Cancer Lett*. 2002;180(1):69-74. doi: [10.1016/s0304-3835\(02\)00006-x](https://doi.org/10.1016/s0304-3835(02)00006-x)
21. Bompa TO, Haff GG. *Periodização: teoria e metodologia do treinamento*: Phorte; 2002.
22. Berzosa C, Cebrian I, Fuentes-Broto L, Gomez-Trullen E, Piedrafita E, Martinez-Ballarín E et al. Acute exercise increases plasma total antioxidant status and antioxidant enzyme activities in untrained men. *J Biomed Biotechnol*. 2011; 2011. doi: [10.1155/2011/540458](https://doi.org/10.1155/2011/540458)
23. Powers SK, Criswell D, Lawler J, Ji LL, Martin D, Herb RA et al. Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. *Am J Physiol*. 1994;266(2):375-R80. doi: [10.1152/ajpregu.1994.266.2.R375](https://doi.org/10.1152/ajpregu.1994.266.2.R375)
24. Ji LL, Stratman FW, Lardy HA. Antioxidant enzyme systems in rat liver and skeletal muscle: influences of selenium deficiency, chronic training, and acute exercise. *Arch Biochem Biophys*. 1988;263(1):150-60. doi: [10.1016/0003-9861\(88\)90623-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(88)90623-6)
25. Ballarò R, Penna F, Pin F, Gómez-Cabrera MC, Viña, J, Costelli P. Moderate Exercise Improves Experimental Cancer Cachexia by Modulating the Redox Homeostasis. *Cancers*. 2019; 11(3):285. doi: [10.3390/cancers11030](https://doi.org/10.3390/cancers11030)