

Papel da suplementação nutricional com ácidos graxos poli-insaturados, ômega-3 e ômega-6, e glutamina na prevenção, incidência e aparecimento de câncer em animais experimentais.

Cancer prevention and incidence in rats submited to nutritional supplementation of glutamine and Ômega-3 and Ômega-6 Polyunsaturated Fatty Acids.

1. Resumo

Objetivos: O objetivo do presente trabalho foi elucidar a eficácia da suplementação nutricional, avaliando-se o papel dos ácidos graxos poli-insaturados, ômega-3 e ômega-6, conjuntamente com o aminoácido glutamina na dieta, e sua atuação na prevenção, incidência e evolução do carcinossarcoma de Walker 256 em animais adultos.

Métodos: Ratos Wistar foram distribuídos em grupos de acordo com a dieta, que receberam desde o momento intra-uterino até a fase adulta, e implante do carcinossarcoma de Walker 256 (T): **C** - controle; **CT** - controle portador de tumor; **GT** - portador de tumor e submetido à dieta com 4% de glutamina; **ω3T** - portador de tumor e submetido à dieta com 24% de ômega-3; **ω6T** - portador de tumor e submetido à dieta com 24% de ômega-6; **ω3/ω6T** - portador de tumor e submetido à dieta com 12% de ômega-3 e 12% de ômega-6; **Gω3/ω6T** - portador de tumor e submetido à dieta com 4% de glutamina, 12% de ômega-3 e 12% de ômega-6. Os animais foram monitorados, semanalmente, e sacrificados após 20 dias de implante tumoral, avaliando-se peso corpóreo, peso relativo dos órgãos (baço, fígado, coração, adrenal, gordura perirrenal, músculo gastrocnêmio e tumor) e avaliados quanto às dosagens séricas de glicose, proteína total, albumina e globulina e hematócrito. A histopatologia foi avaliada do tecido tumoral dos grupos CT, GT e ω3/ω6T.

Resultados: Os resultados mostraram que a evolução do peso corpóreo foi reduzida nos $\omega 3T$ e $\omega 3T/\omega 6T$; a suplementação nutricional promoveu manutenção da evolução do peso corpóreo nos grupos GT, $\omega 6T$ e $G/\omega 3/\omega 6T$ em relação aos C; o peso absoluto e relativo tumoral foi maior que CT em todos os grupos suplementados, exceto nos GT; o mesmo aconteceu com baço e fígado. A gordura perirrenal foi maior em todos os grupos analisados; o hematócrito foi reduzido em todos os grupos, porém nos grupos $\omega 3T$ e $G/\omega 3/\omega 6T$ houve recuperação dos valores glicêmicos, proteínas totais e albumina sérica. A histopatologia mostrou que houve redução do número de células porém sem alteração no índice de mitoses no grupo $\omega 3/\omega 6T$ em relação aos grupos CT e GT.

Conclusão: Dieta com ácidos graxos poli-insaturados, especialmente ômega-3, pode modular o crescimento tumoral. Por outro lado, as dietas, como glutamina, ω -3 e ω -6 ($G/\omega 3/\omega 6T$) e ômega 3 ($\omega 3T$) promoveram recuperação da glicemia, proteína total e albumina, parâmetros que são importantes indicadores do padrão nutricional estável em organismo portador de tumor, principalmente, nesse modelo tumoral indutor de caquexia.

Palavras-chave: Ácidos graxos poli-insaturados, Glutamina, Suplementação Nutricional, Câncer, Prevenção, Tumor de Walker 256.

2. Introdução

O câncer é uma patologia na qual as células dividem-se de forma descontrolada e acima das necessidades teciduais (1). A associação entre diversos fatores tem sido apontada como a principal causa de aparecimento de tumores e o aumento na incidência desta doença está relacionado à urbanização, industrialização, poluição e, especialmente, às mudanças de hábitos alimentares. Os tipos de cânceres mais diretamente afetados pela alimentação são os de cólon, reto, estômago e pâncreas. Estudos epidemiológicos destacam que o consumo de frutas e hortaliças tem efeito protetor contra diversas formas de câncer e o aumento no consumo de vegetais promove redução na incidência global de neoplasias malignas, que varia de 7% a 31% (2).

Estudos epidemiológicos destacam que o consumo de certos nutrientes tem efeito protetor contra diversas formas de câncer, portanto, muitas pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de associar o consumo desses determinados nutrientes à prevenção de neoplasias malignas. Embora estes estudos sejam de grande interesse científico, poucos apresentam resultados conclusivos acerca do assunto. Desta forma, ainda não há dados que comprovem alteração no desenvolvimento neoplásico, decorrente de mudança no hábito alimentar, com orientação nutricional voltada para a prevenção do desenvolvimento de neoplasia maligna.

A suplementação nutricional é utilizada comumente em pacientes com tumor para recuperar o sistema imune deprimido pelo câncer **(3)**. Os efeitos benéficos da suplementação alimentar já foram comprovados em alguns estudos experimentais no tratamento de câncer, com redução no crescimento do tumor em ratos, mediante administração do ácido graxo poli-insaturado ômega-3 **(3, 4 e 5)** ou do aminoácido glutamina **(3)**.

A glutamina é o aminoácido mais abundante no corpo e importante substrato para a rápida proliferação de células e tecidos. Tem sido mostrado que o rápido crescimento de tumores consome grande quantidade de glutamina causando progressiva redução na disponibilidade deste aminoácido, o que causa efeitos adversos na mucosa gastrointestinal e complicações na tolerância de tratamentos anticâncer **(3)**.

Alguns ácidos graxos poli-insaturados são essenciais na dieta, porque não podem ser sintetizados pelo organismo. Esses lipídeos essenciais incluem ácido linolênico (ômega-6) e ácido linoleico (ômega-3). O consumo de ômega-3, em estudos com animais, promove diminuição do peso e volume do tumor, por afetar o metabolismo de prostaglandinas **(3)**. A prostaglandina E₂ é metabólito formado a partir de ômega-6 através da via de degradação pela ciclooxigenase, suprimindo a função das células T e liberação de citocinas, incluindo a interleucina-1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral (TNF α) **(3)**. Desta forma, o aumento do consumo de ômega-3 na dieta diminui os metabólitos provenientes de ômega-6 (por exemplo, a PGE₂), resultando na melhora da

função das células T, na atividade das células de defesa e na função dos macrófagos, promovendo, assim, melhora da resposta do sistema imune das cobaias portadoras de câncer **(3)**.

Outro estudo, porém, indica que o efeito quimiopreventivo do óleo de peixe é devido à ação direta do ω -3 e não à redução dos metabólitos de ω -6. O consumo de ω -3 atuaria diminuindo a formação de adutos pelo carcinógeno e a formação de criptas aberrantes, diminuindo a promoção de tumorigênese **(6)**.

O consumo destes nutrientes pode ser feito através da suplementação alimentar, por exemplo, com óleos de peixes ricos em ácidos graxos poli-insaturados, para avaliar o papel destes nutrientes na prevenção do câncer de cólon.

Devido às dificuldades de tratamento do câncer, por ser uma doença que avança muito rapidamente, nem sempre é diagnosticada a tempo de ser curada e que pode atingir outros tecidos através do processo de metástase, faz-se necessário estudar meios de prevenir que a neoplasia maligna ocorra. Para tanto, vem crescendo o interesse em pesquisas relacionadas à suplementação nutricional, modificação ou adequação do hábito alimentar.

O objetivo desse trabalho foi avaliar a eficácia da suplementação nutricional, verificando-se o papel dos ácidos graxos poli-insaturados, ômega-3 e ômega-6, conjuntamente com o aminoácido glutamina na dieta, e sua atuação na prevenção, incidência e evolução do carcinossarcoma de Walker 256 em animais adultos. Para tanto, avaliou-se o crescimento tumoral bem como suas alterações histológicas, e também foram avaliados os efeitos da suplementação nutricional sobre parâmetros corporais e bioquímicos desses ratos Wistar adultos implantados com tumor.

Esse trabalho está de acordo com o comitê internacional de pesquisa em câncer (UKCCCR National Register of Cancer Trials **(14)**), e também com protocolo para experimentação em animais com tumor aprovado pela Comissão de Ética para Experimentação Animal (CEEa-IB/UNICAMP), sob número 1016-1.

3. Materiais e Métodos

3.1. Animais e dietas

Os objetos de estudo da pesquisa são ratos Wistar mantidos no biotério do Departamento de Fisiologia e Biofísica da UNICAMP e provenientes do Centro de Bioterismo da UNICAMP - CEMIB. Os animais são alojados em gaiolas coletivas, com alimentação e água *ad libitum* e condições normais de temperatura e luz.

As dietas semipurificadas são preparadas de acordo com AIN-93G (7), sendo isocalóricas, com suplementação de glutamina, na proporção de 4%, e ácidos graxos, ômega-3 e ômega-6, na proporção de 24%.

3.2. Tumor

O carcinossarcoma Walker 256 foi injetado no subcutâneo, através de injeção única com 1×10^6 células viáveis por inóculo (esse número de células corresponde a 100% de pega em animais normais). O crescimento do tumor foi monitorado semanalmente durante 20 dias e sua massa foi estimada *in situ*, em gramas, através de medidas de volume (comprimento, largura e espessura) (8).

3.3. Procedimento experimental

As dietas foram administradas às ratas grávidas, durante a fase gestacional (21 dias) e fase de lactação (21 dias). Após o desmame, foram sorteados 2 ratos machos de cada ninhada para prosseguirem com o mesmo protocolo nutricional que receberam durante o período de prenhez e amamentação. Do grupo controle, foram sorteados 2 ratos machos para inoculação do tumor e outros 2 ratos para serem mantidos como controles do experimento. Logo, os grupos de ratos recém-desmamados foram acompanhados por 70 dias subseqüentes e após esse período receberam ou não implante tumoral e foram monitorados por mais 20 dias.

Assim, o período experimental corresponde a 110 dias (nascimento até momento do sacrifício). Com este protocolo experimental, pretendeu-se verificar o efeito da dieta na composição de *imprint* gênico durante a gestação, sob influência do microambiente fetal e, então, avaliados

esses efeitos na fase adulta desses animais. Organograma do procedimento experimental encontra-se na Figura 1, compreendendo os seguintes grupos:

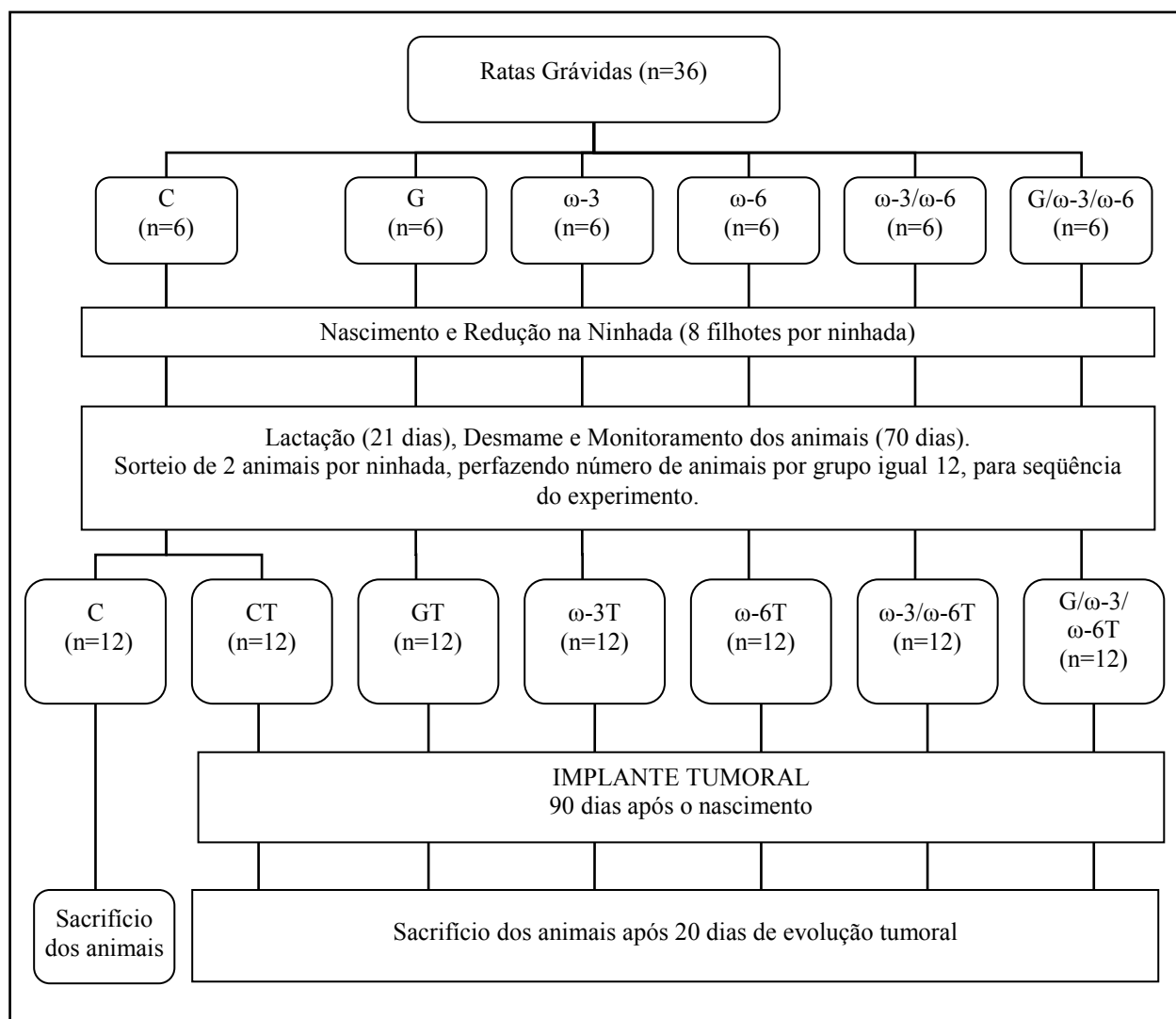


Figura 1: Diagrama esquematizando o procedimento experimental

Medida de peso corpóreo dos animais foi monitorada semanalmente e, após o implante tumoral, foram avaliadas a incidência e crescimento estimado **(8)** da massa tumoral na mesma periodicidade. Após 20 dias de implante tumoral, os animais foram sacrificados, sendo retirados órgãos (como baço, fígado, coração, adrenal, gordura, músculo gastrocnêmio e tumor), para avaliação do peso absoluto e relativo, e também coletado sangue para dosagens bioquímicas séricas de glicose **(9)**, proteína total **(10)**, albumina **(11)** e globulina (diferença entre as concentrações de

proteína e albumina). Também foram coletados fragmentos de tecido tumoral dos grupos CT, GT e $\omega 3/\omega 6T$ para análise histopatológica, contagem de células e análise do índice de mitose.

3.4. Histopatologia

Amostras dos tumores foram retiradas, fixadas em paraformaldeído (4%), para posterior inclusão em resina e corte histológico de $2\mu m$, com coloração de azul de toluidina (12) para comparação morfológica e morfométrica tecidual entre os grupos analisados.

Foi utilizado sistema de aquisição de imagem para análise morfométrica, contagem do número de células e índice mitótico, utilizando-se software Image Pro-Plus e sistema de captura de imagem de microscopia de luz.

4. Resultados

Neste trabalho, foi possível acompanhar os animais, desde o momento de cruzar até o sacrifício de animais adultos, sendo os dados apresentados através de gráficos, juntamente com o número de animais por grupo.

O ganho de peso (Figura 1) foi constante e progressivo no grupo controle. Os animais portadores de tumor CT apresentaram nítido decréscimo do ganho de peso, quando comparado ao grupo C; valor também verificado para o grupo $\omega 3/\omega 6T$ ao final do período da terceira semana.

A evolução do peso corpóreo (Figura 2) foi significativamente maior nos grupos GT, $\omega 3T$ e $G\omega 3/\omega 6T$; principalmente após a terceira semana de implante tumoral.

O peso da carcaça (Figura 3), que corresponde ao peso corpóreo total menos vísceras e massa tumoral, apresentou-se maior nos grupos GT, $\omega 3T$ e $G\omega 3/\omega 6T$.

O peso absoluto e relativo do tumor foi reduzido nos grupos GT e $G\omega 3/\omega 6T$ em relação aos demais grupos alimentados com ômega-6 e associado a ômega 3 ($\omega 6T$ e $\omega 3\omega 6T$) (Figura 4); apresentando valor do peso relativo para esses grupos acima de 10% do peso corporal.

O crescimento tumoral promove efeitos bastante proeminentes em determinados órgãos. O baço apresentou-se bastante aumentado (peso absoluto e peso relativo) em todos os grupos com

tumor, quando comparado ao grupo C (Figura 5). Esses valores foram bastante significativos para os grupos tratados com ômega 6 ($\omega 6T$, $\omega 3\omega 6T$ e $G\omega 3\omega 6T$).

O peso do fígado (figura 6) eleva-se na vigência do câncer, como pode ser observado no grupo CT em relação ao grupo controle; porem apenas o grupo GT apresentou peso relativo similar ao C; os demais grupos apesar de apresentarem peso absoluto hepático maior que o grupo CT, os pesos relativos assemelharam-se ao do CT, sendo mais pronunciado no grupo $G\omega 3\omega 6T$.

A figura 7 mostra os dados relativos ao peso do coração, que reduziu-se no grupo CT; foi elevado nos demais grupos tratados com suplementação de ômega 3, ômega 6 e glutamina ($\omega 3T$, $\omega 6T$, $\omega 3\omega 6T$, $G\omega 3\omega 6T$).

O crescimento tumoral causou redução do peso muscular (Figura 8) nos grupos CT, $\omega 6T$, $\omega 3\omega 6T$ e $G\omega 3\omega 6T$, porem esse parâmetro foi elevado nos grupos $\omega 3T$ e GT.

A gordura perirrenal é frequentemente espoliada com o crescimento tumoral, como pode ser observada no grupo CT (Figura 9), porém foi preservada no grupo GT e significativamente aumentada nos grupos tratados com ácidos graxos poli-insaturados ($\omega 3T$, $\omega 3\omega 6T$, $G\omega 3\omega 6T$).

O hematócrito foi reduzido em todos os grupos com tumor (Figura 10), porém nos grupos $\omega 3T$, $\omega 6T$, $\omega 3\omega 6T$ e $G\omega 3\omega 6T$ essa redução foi mais acentuada.

A glicemia (Figura 11) reduz-se com o crescimento tumoral, como pode ser observada em CT, GT e $\omega 3\omega 6T$, porém houve recuperação e aumento dos valores glicêmicos nos grupos $G\omega 3\omega 6T$ e $\omega 3T$, respectivamente.

As proteínas totais (Figura 12) foram reduzidas nos grupos CT, GT, $\omega 6T$ e $\omega 3\omega 6T$, porém foram preservadas no grupo $G\omega 3\omega 6T$ e aumentadas no grupo $\omega 3T$.

Os valores séricos de albumina foram preservados nos grupos CT e $\omega 6T$; houve aumento nos grupos GT e $G\omega 3\omega 6T$ e reduziu nos grupos $\omega 3T$ e $\omega 3\omega 6T$ (Figura 13).

A figura 14 mostra por microscopia de luz, aumento de 1000x, a histopatologia do tecido tumoral dos grupos controle, suplementados com dieta rica em glutamina e dieta rica em ômega-3 e ômega-6. Verifica-se células bastante irregulares quanto ao tamanho, forma e orientação tecidual

(Figura 14 A, B, C, D, E e F). Observa-se várias células em processos mitóticos como metáfase e anáfase (Figura A e B), que também estão presentes no tecido do grupo GT e $\omega 3\omega 6T$. Verificou-se no estudo morfométrico que o número de células foi significativamente reduzido no grupo $\omega 3\omega 6T$ em relação aos outros dois grupos (CT e GT) (Figura 15 A), porém não houve alteração no índice de mitoses entre os três grupos (Figura 15B).

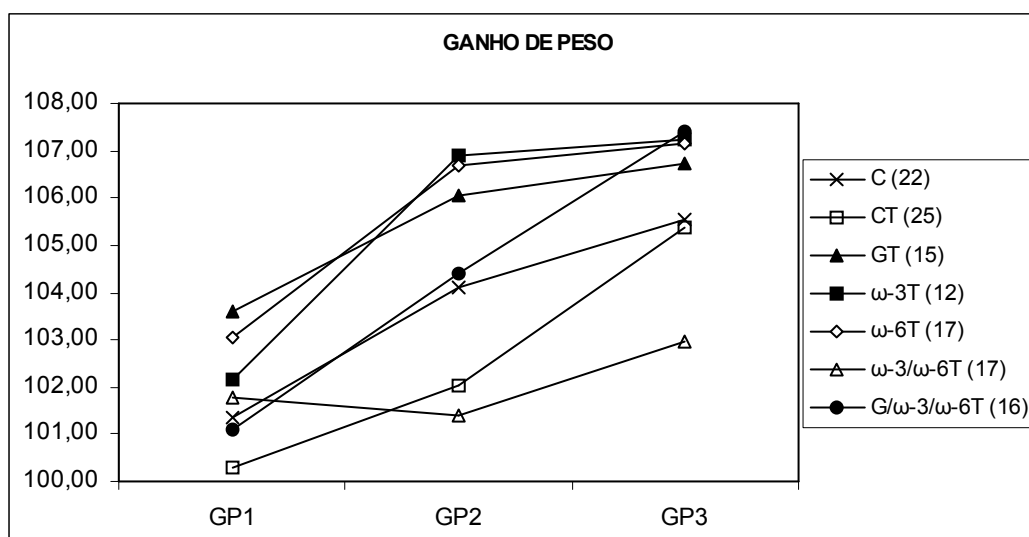


Figura 1: Gráfico representativo do ganho de peso (%) dos animais, após inoculação tumoral. GP1: após 1 semana; GP2: após 2 semanas; GP3: após 3 semanas. Legenda dos grupos descrita em materiais e métodos. () = número total de animais por grupo experimental.

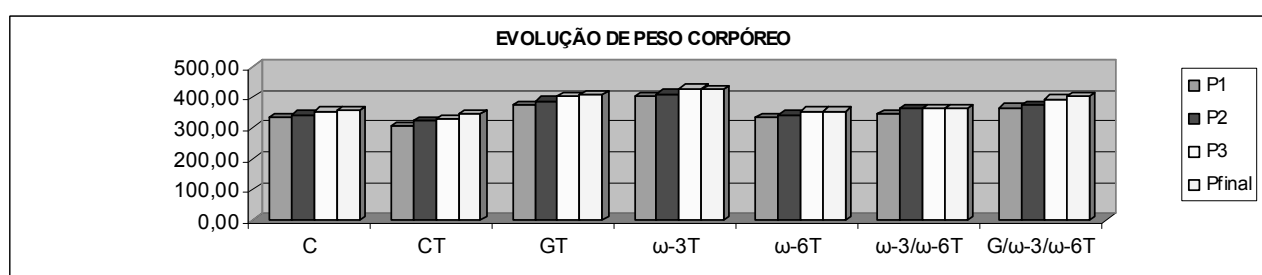


Figura 2: Gráfico representativo da evolução de peso corpóreo (g) dos animais, após inoculação tumoral. P1: dia da inoculação; P2: após 1 semana de inoculação; P3: após 2 semanas da inoculação; Pfinal: dia do sacrifício. Número total de animais vide Figura 1.

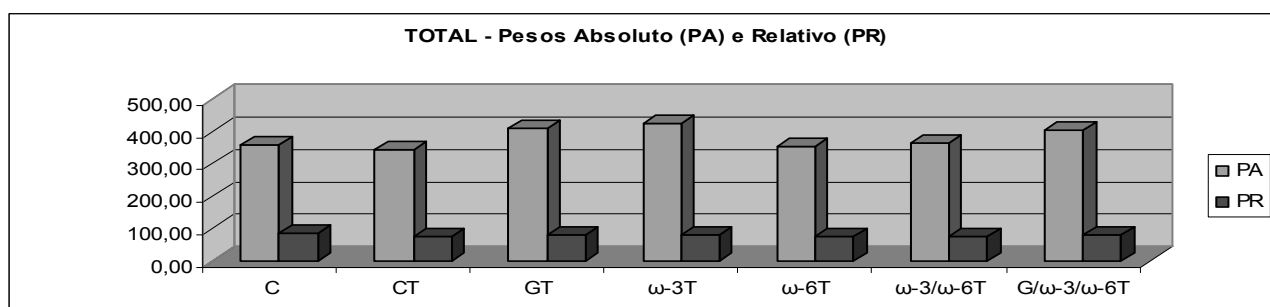


Figura 3: Gráfico ilustrando peso total (g) dos animais no sacrifício. O peso relativo (%) representa o peso da carcaça dividido pelo peso total do animal. Número total de animais vide Figura 1.

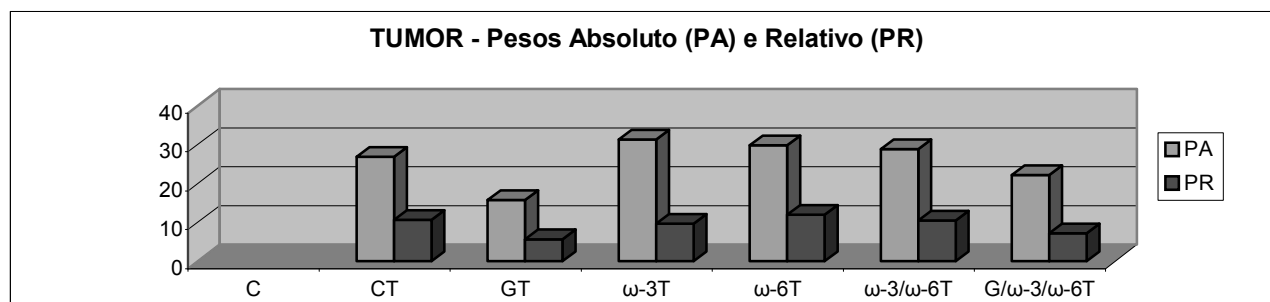


Figura 4: Gráfico ilustrando peso tumoral (g) dos animais no sacrifício. O peso relativo (%) representa o peso tumoral dividido pelo peso da carcaça. Número total de animais vide Figura 1.

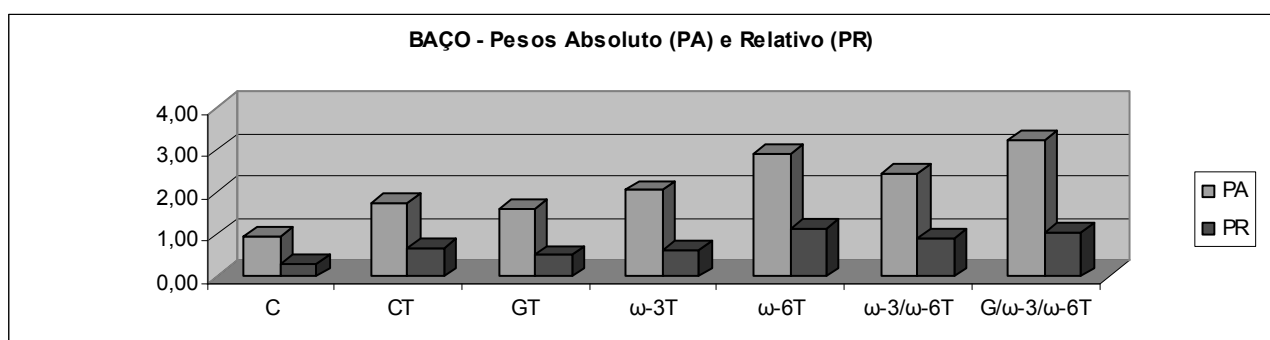


Figura 5: Gráfico ilustrando peso do baço (g) dos animais no sacrifício. O peso relativo (%) representa o peso do órgão dividido pelo peso da carcaça. Número total de animais vide Figura 1.

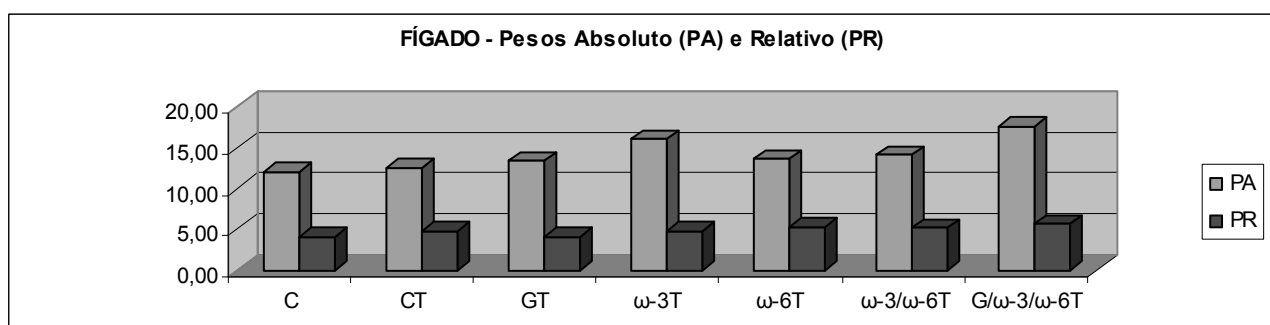


Figura 6: Gráfico ilustrando peso do fígado (g) dos animais no sacrifício. O peso relativo (%) representa o peso do órgão dividido pelo peso da carcaça. Número total de animais vide Figura 1.

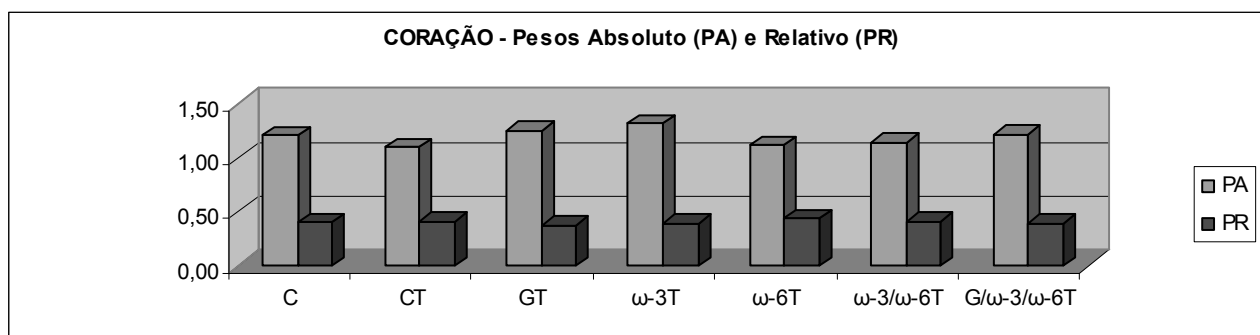


Figura 7: Gráfico ilustrando peso do coração (g) dos animais no sacrifício. O peso relativo (%) representa o peso do órgão dividido pelo peso da carcaça. Número total de animais vide Figura 1.

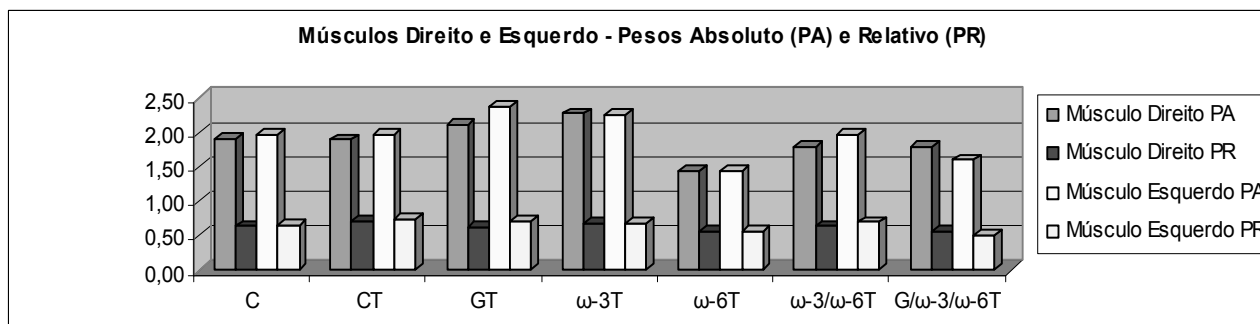


Figura 8: Gráfico ilustrando peso (g) dos músculos gastrocnêmio direito e esquerdo dos animais no sacrifício. O peso relativo (%) representa o peso dos órgãos dividido pelo peso da carcaça. Número total de animais vide Figura 1.

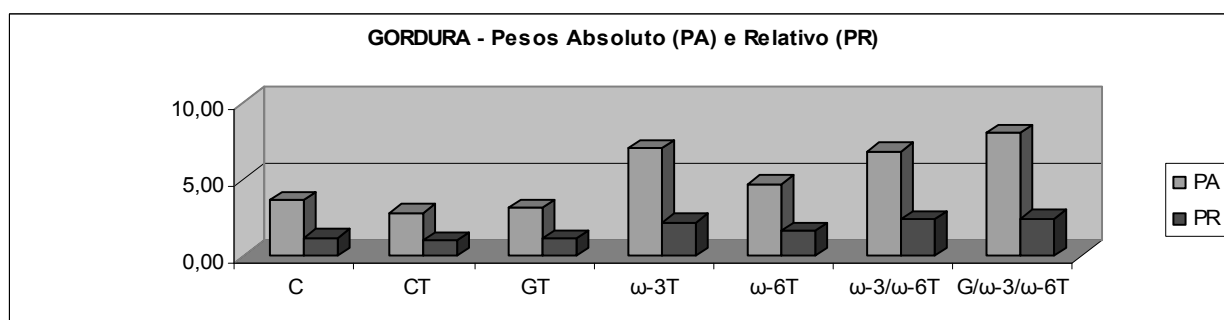


Figura 9: Gráfico ilustrando peso da gordura perirrenal (g) dos animais no sacrifício. O peso relativo (%) representa o peso da gordura dividido pelo peso da carcaça. Número total de animais vide Figura 1.

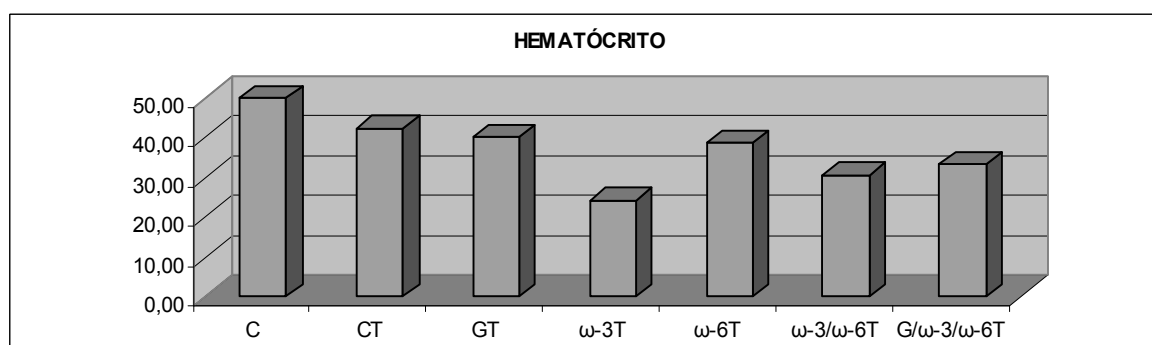


Figura 10: Gráfico representando valores de hematócrito (%), obtidos através de amostras de sangue coletadas no dia do sacrifício. Número total de animais vide Figura 1.

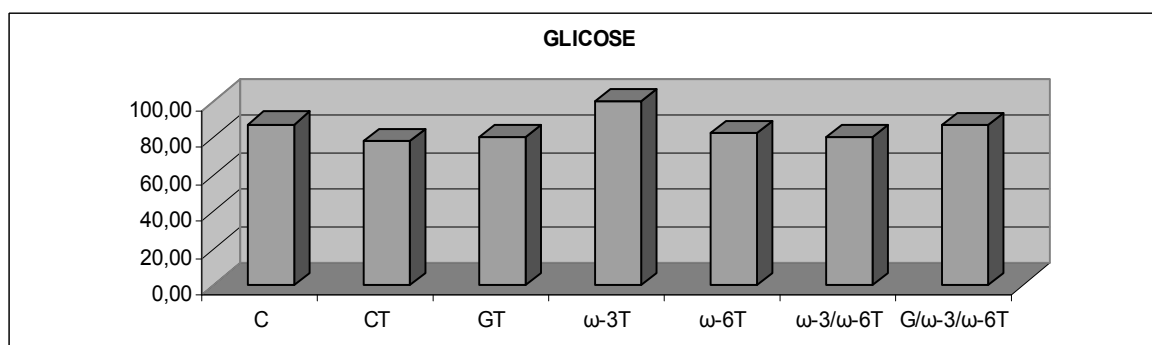


Figura 11: Gráfico representando valores de glicose sérica (mg/dl) (9), obtidos através de amostras de sangue coletadas no dia do sacrifício. Número total de animais vide Figura 1.

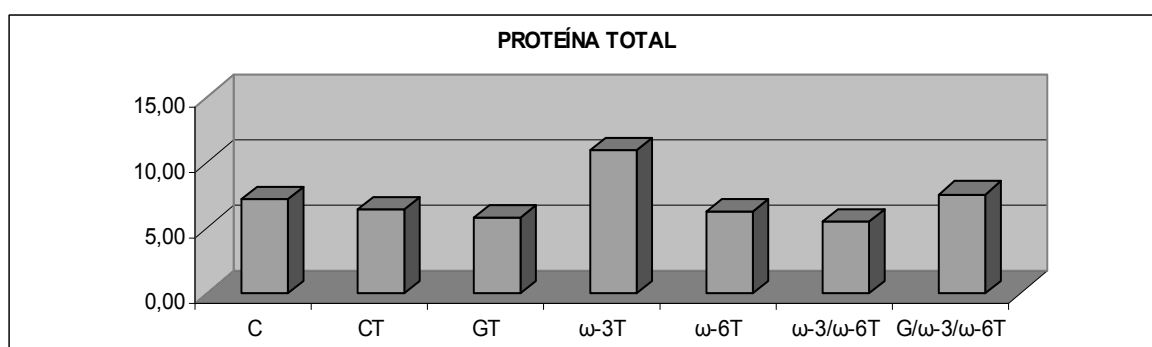


Figura 12: Gráfico representando valores de proteína sérica (g/L) (10), obtidos através de amostras de sangue coletadas no dia do sacrifício. Número total de animais vide Figura 1.

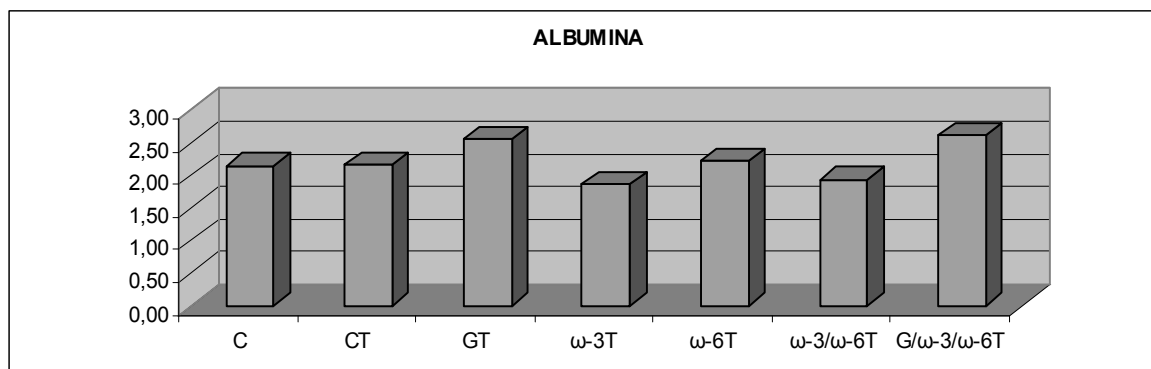


Figura 13: Gráfico representando valores de albumina sérica (g/L) (11), obtidos através de amostras de sangue coletadas no dia do sacrifício. Número total de animais vide Figura 1.

Carcinossarcoma de Walker 256

Histologia - Azul de Toluidina pH 9,0 - Aumento: 1000X

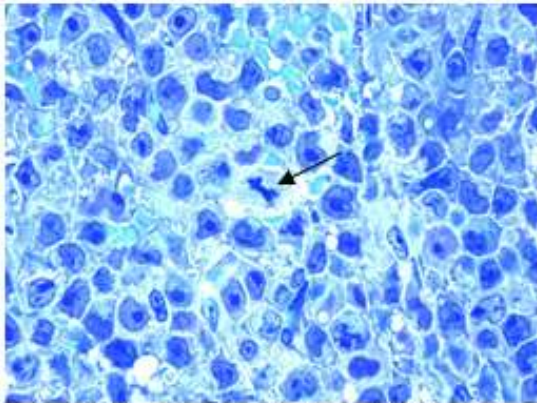


Figura 14A - CT

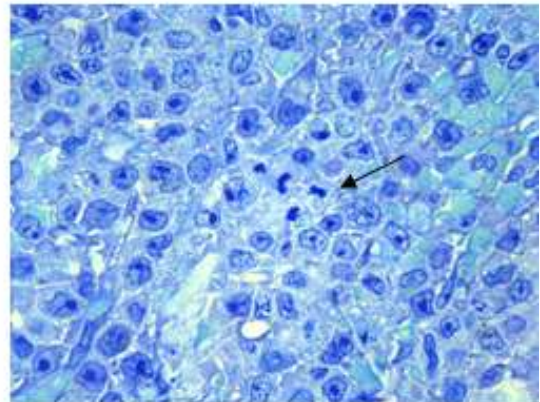


Figura 14B - CT

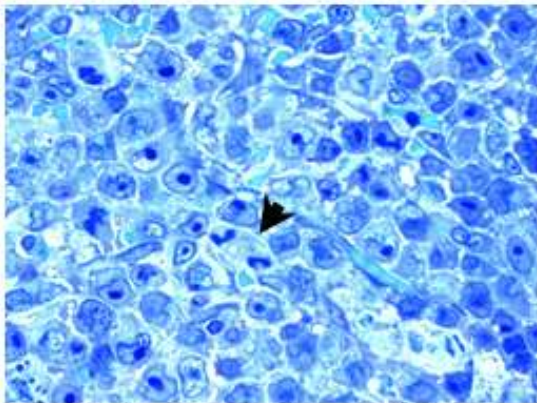


Figura 14C - GT

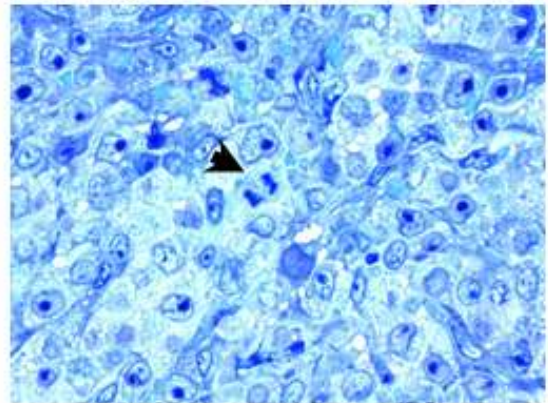


Figura 14D - GT

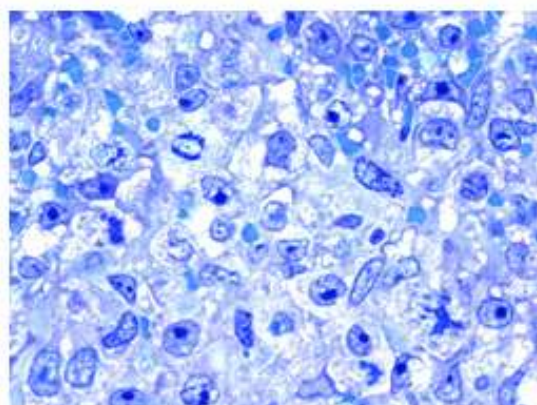


Figura 14E - ω3ω6T

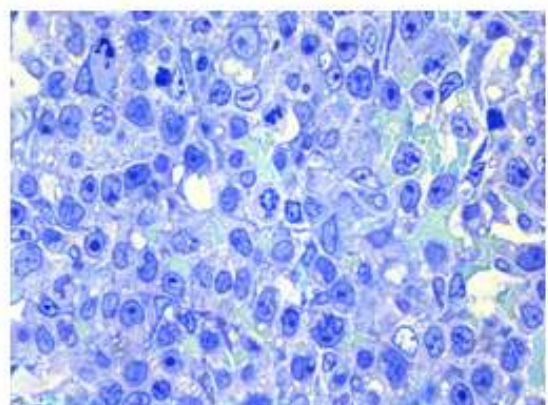


Figura 14F - ω3ω6T

Figura 14: Microscopia de luz, coloração azul de toluidina, do tecido tumoral dos grupos CT, GT e $\omega 3\omega 6T$, obtidos através de amostras coletadas no dia do sacrifício. Mitoses verificadas anáfase (setas) metáfase (cabeça de seta). Número total de animais vide Figura 1.

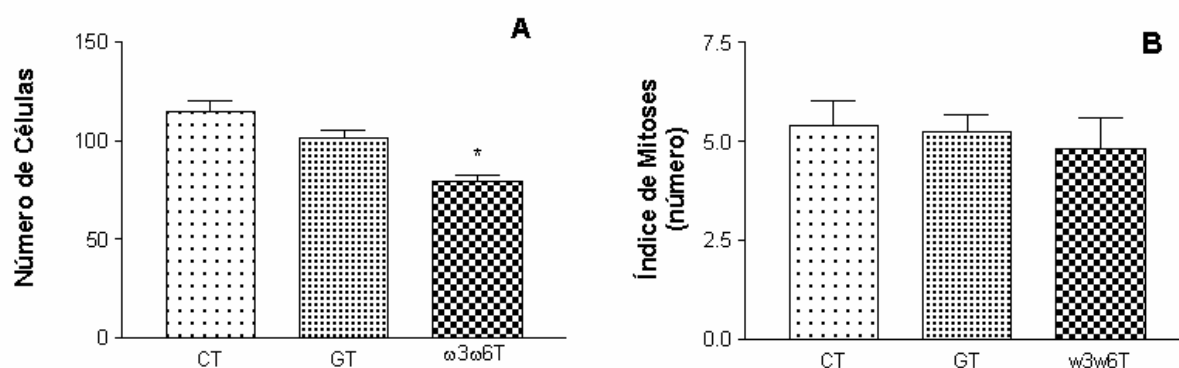


Figura 15: Análise morfométrica do tecido tumoral dos grupos CT, GT e ω3ω6T, obtidos através de amostras coletadas no dia do sacrifício. A – Número de células. B – Índice de mitoses (vide Figura 14 A e B). Número total de animais vide Figura 1.

5. Discussão

Câncer de colon é o tipo mais prevalente no mundo Ocidental e tem sido mostrada a relação existente entre incidência desse tipo de câncer com o consumo de gordura, bem como a qualidade dessa gordura (15). Estudos epidemiológicos têm apontado o aparente benefício dos ácidos graxos poli-insaturados sobre a mortalidade por câncer (16). Paralelamente, há redução da incidência de câncer de colon nas populações que consomem grandes quantidades de ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs), especialmente ômega-3 (17-20). Assim, nesse trabalho associou-se a administração dietária de ácidos graxos poli-insaturados aos efeitos produzidos pelo crescimento do carcinossarcoma de Walker 256.

O mecanismo pelo qual os PUFAs exercem efeitos anti-tumorais ainda são especulativos, mas há hipóteses que seja em função da redução de prostaglandinas e da síntese de óxido nítrico, como também aumento da taxa de peroxidação da membrana celular (20, 21). Além disso, o mecanismo de supressão do crescimento tumoral pelo ômega-3 pode ser relacionado a geração de mediadores eicosanóicos menos ativos comparado com outro ácido graxo poli-insaturado linolênico (ômega-6) e também a modulação de transdução de sinal e expressão gênica para indução de apoptose (20, 21). Estudos experimentais demonstraram que os ácidos graxos inibem a

carcinogênese induzida em ratos, reduziram o crescimento de carcinoma de colon transplantado em camundongos e induziu apoptose em células tumorais coloretais em cultura (20 - 23). Alguns estudos mostraram que esses ácidos graxos, ômega-3 e ômega-6, exercem efeitos benéficos adicionais em patologia neoplásica, como inibição de metástases e angiogênese (21, 22). Alguns estudos apontam para os efeitos anti-tumorais relacionados mais com ômega-3 do que com os efeitos produzidos pelo ômega-6, em modelos de metástases de câncer de pulmão (24).

Estudos recentes têm mostrado que aumentando a ingestão de ômega-3 na dieta decresce a concentração de esfingnomelanina, colesterol e caveolin-1, sugerindo que esse ácido graxo pode modular a composição do agregamento dos lipídeos (25). Os ácidos graxos poli-insaturados têm atuado no efeito anti-tumoral, pois parece que perturbam os lipídeos de membrana celular, afetando assim a função celular (22, 26, 27). Além disso os níveis normais de enzimas para o metabolismo de PUFA's são limitados nos tecidos tumorais (22, 28). Além disso, o aumento da quantidade de fosfolípidos aumenta a densidade de grupos carregados negativamente na membrana de células intestinais em pH baixo e de cargas positivas em pH elevado, limitando assim a característica funcional celular (22).

Assim a estrutura de membrana e função celular são modificadas durante a transformação maligna. Isto refletido pelas alterações na quantidade de fosfolipídios e ácidos graxos na membrana de células. Os resultados obtidos nesse trabalho levam em consideração que os ácidos graxos poli-insaturados podem desarranjar a estrutura lipídica da membrana celular, mudando sua topografia, e assim afetar a função celular como, por exemplo, permeabilidade, propriedades eletrolíticas, fluidibilidade, dentre outras.

Por outro lado, estudos recentes têm apontado para o importante aspecto epigenético, modulando a característica do indivíduo adulto nas respostas celulares em função, também, dos nutrientes ingeridos. Os fatores estocásticos, genéticos e ambientais estão envolvidos em modulação da expressão gênica e conseqüente resposta celular para a origem de doenças ou fenômenos agravados por processo de iniciação ou promoção da carcinogênese (29). Assim, novos estudos são

importantes para a elucidação de processos celulares ou mesmo macroscópicos do desenvolvimento tumoral, em especial para o caso desse trabalho com o carcinossarcoma de Walker, onde verificou-se parâmetros diferentes de desenvolvimento e de proliferação celular em função do tipo de dieta a qual os animais foram submetidos.

6. Conclusão

Vale ressaltar a existência de vários fatores envolvidos na proliferação tumoral, em ensaios experimentais. Assim conclui-se que dieta com ácidos graxos poli-insaturados, especialmente ômega-3, pode modular o crescimento tumoral. Por outro lado, as dietas, como glutamina, ω -3 e ω -6 (G/ ω 3/ ω 6T) e ômega 3 (ω 3T) promoveram recuperação da glicemia, proteína total e albumina, parâmetros que são importantes indicadores do padrão nutricional estável em organismo portador de tumor, principalmente, nesse modelo tumoral indutor de caquexia.

7. Bibliografia

1. Santos Jr, A.R.; Wada, M.L.F. Diferenciação Celular. **In:** Carvalho, H.F., Recco-Pimentel, S.M. *A Célula 2001*. São Paulo, SP: Editora Manole, 2001. p. 260-274
2. Garófolo, A.; Avesani C.M.; Camargo, K.G.; Barros, M.E.; Silva, R.J.S.; Taddei, J.A.A.C., Sigulem, D.M. Dieta e câncer: um enfoque epidemiológico. *Rev. Nutr.* **17 (4)**: 491-505, 2004
3. Imoberdorf, R. Immuno-nutrition: designer diets in cancer. *Support Care Cancer* **5**: 381-386, 1997
4. Kato T.; Hancock R.L.; Mohammadpour H.; Mc Gregor B.; Manalo P.; Khaiboullina S.; Hall M.R., Pardini L., Pardini R.S. Influence of ômega-3 fatty acids on the growth of human colon carcinoma in nude mice. *Cancer Lett* **187**: 169-177, 2002

5. Klurfeld, D.M.; Bull, A.W. Fatty acids and colon cancer in experimental models. *Am J Clin Nutr* **66** (Suppl): 1530S-1538S, 1997
6. Davidson, L.A.; Nguyen, D.V.; Hokanson, R.M.; Callaway, E.S.; Isett, R.B.; Turner, N.D.; Dougherty, E.R.; Wang, N.; Lupton, J.R.; Carroll, R.J.; Chapkin, R.S. Chemopreventive n-3 polyunsaturated fatty acids reprogram genetic signatures during colon cancer initiation and progression in the rat. *Cancer Res.* **64** (18): 6797-804, 2004
7. Reeves, P.G. Components of the AIN-93 Diets as Improvements in the AIN-76A Diet. Symposium: Animal Diets for Nutritional and Toxicological Research. 1997
8. Gomes-Marcondes MC, Honma HN, Areas MA, Cury L. Effect of Walker 256 tumor growth on intestinal absorption of leucine, methionine and glucose in newly weaned and mature rats. *Braz J Med Biol Res.* **31** (10): 1345-8, 1998
9. Trinder, P. Determination of blood glucose using on oxidase-peroxidase system with a non carcinogenic chromogen. **In:** J. Clin. Path., 22: 158-61, 1969
10. Henry, R.J.: Determination of serum protein by biuret reaction. **In:** Clinical chemistry principles and technics. 2ed. Hagerstown, Harper & How, 413, 1974
11. Doumas BT, Watson WA, Biggs HG. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. **In:** Clin Chim Acta 31(1):87-96, 1971
12. Becak W.; Paulete J. Histologia. **In:** *Técnicas de Citologia e Histologia*. São Paulo, SP: Livraria Nobel, 27-151, 1970
13. Gad S.C.; Weil C.S. Statistic for toxicologists. **In:** Wallace H (editor), *Principles and Methods of toxicology*. New York. Raven Press Ltda, 1994. p. 221-274
14. Vale C, Stewart L, Tierney J. Trends in UK cancer trials: results from the UK Coordinating Committee for Cancer Research National Register of Cancer Trials. *Br J Cancer* 14; **92**(5): 811-4, 2005
15. Stehr SN, Heller AR. Ômega-3 fatty acid effects on biochemical indices following cancer surgery.. *Int J Clin Chem* 373:1–8, 2006

16. Kikugawa K, Yasuhara Y, Ando K, Koya K, Hiramoto K, Suzuki M, Protective Effect of Supplementation of Fish Oil with High n-3 Polyunsaturated Fatty Acids against Oxidative Stress-Induced DNA Damage of Rat Liver in Vivo. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.*, 51, 6073-6079, 2003
17. Bartsch H, Nair J, Owen R. Dietary polyunsaturated fatty acids and cancer of the breast and colorectum: emerging evidence for their role as risk modifiers. *Carcinogenesis* 20:2209–2218, 1999
18. Eastwood G Pharmacologic prevention of colonic neoplasms. Effects of calcium, vitamins, omega fatty acids and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Dig Dis Sci* 14:119–128, 1996
19. Reddy B Chemoprevention of colon cancer by dietary fatty acids. *Cancer Metastasis Rev* 13:285–302, 1994
20. Gutt CN, Brinkmann L, Mehrabi A, Fonouni H, Müller-Stich BP, Vetter G, Stein JM, Schemmer P, Büchler MW. Dietary omega-3-polyunsaturated fatty acids prevent the development of metastases of colon carcinoma in rat liver. *Eur J Nutr.* Aug;46(5):279-85, 2007
21. Mund RC, Pizato N, Bonatto S, Nunes EA, Vicenzi T, Tanhoffer R, de Oliveira HH, Curi R, Calder PC, Fernandes LC. Decreased tumor growth in Walker 256 tumor-bearing rats chronically supplemented with fish oil involves COX-2 and PGE2 reduction associated with apoptosis and increased peroxidation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2007 Feb;76(2):113-20
22. Szachowicz-Petelska B, Sulkowski S, Figaszewski ZA. Altered membrane free unsaturated fatty acid composition in human colorectal cancer tissue. *Mol Cell Biochem.* 294(1-2):237-42. 2007
23. Rose DP, Connolly JM. Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents *Pharmacology & Therapeutics* 83 : 217–244, 1999

24. Chapkin RS, Davidson LA, Ly L, Weeks BR, Lupton JR, McMurray DN
Immunomodulatory effects of (n-3) fatty acids: putative link to inflammation and colon cancer. *J Nutr.*;137(1 Suppl):200S-204S. 2007
25. Martin RE, Elliott MH, Brush RS, Anderson RE: Detailed characterization of the lipid composition of detergent-resistant membranes from photoreceptor rod outer segment membranes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46: 1147–1154, 2005
26. Hardman WE: (n)3) Fatty acids and cancer therapy. *J Nutr* 134: 3427S–3430S, 2004 46
27. Ma DW, Seo J, Switzer KC, Fan YY, McMurray DN, Lupton JR, Chapkin RS: n)3 PUFA and membrane microdomains: a new frontier in bioactive lipid research. *J Nutr Biochem* 15: 700–706, 2004
28. Cantrill RC, Huang YS: Fatty acids and cancer. *Nutrition* 14(2): 235– 236, 1998
29. Junien C. Nutriepigenomics\; a lifelong stochastically, genetically and environmentally triggered remodeling of our epigenomes. *Ann Nutri Metab.* 51(1): 3, 2007