

ARTIGO ORIGINAL

ANÁLISE DO EFEITO DO EXERCÍCIO RESISTIDO NA EXPRESSÃO DE IGF2 DE CAMUNDONGOS C57BL/6 COM CAQUEXIA ASSOCIADA AO CÂNCER

ANALYSIS OF THE EFFECT OF RESISTANT EXERCISE ON IGF2 EXPRESSION IN C57BL/6 MICE WITH CACHEXIA ASSOCIATED WITH CANCER

ANÁLISIS DEL EFECTO DEL EJERCICIO RESISTENTE SOBRE LA EXPRESIÓN DE IGF2 EN RATONES C57BL / 6 CON CACHEXIA ASOCIADA CON CÁNCER

Paula Fernanda Lopo Costa  

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
E-mail: fernandalopo1407@gmail.com

João Vitor Nunes Lopes  

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
E-mail: nunes.joao@ufvjm.edu.br

Carla Taynah Nascimento e Silva  

INSTITUTO DE ENSINO SUPERIOR DA GRANDE FLORIANOPOLIS - IES
E-mail: carlatsilva@gmail.com

Alex Sander Freitas  

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
E-mail: alexsanderfreitas3@gmail.com

Saulo Daniel Mendes Cunha Santos  

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
E-mail: saulo.cunha@unimontes.br

Frederico Sander Mansur Machado  

INSTITUTO DE ENSINO SUPERIOR DA GRANDE FLORIANOPOLIS - IES
E-mail: machado.frederico@outlook.com

Mariana Rocha Alves  

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
E-mail: marianarochaalves13@gmail.com

Vinicius Dias Rodrigues  

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
E-mail: viniciuslabex@hotmail.com

Luiz Alexandre Medrado de Barcellos  

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
E-mail: luiz.barcellos@uemg.br

Data de Submissão: 04/03/2022 Data de Publicação: 29/09/2022

Como citar: COSTA, P. F. L. *et al.* Análise do efeito do exercício resistido na expressão de igf2 de camundongos C57bl/6 com caquexia associada ao câncer. **Revista Eletrônica Nacional de Educação Física**, v. 13, n. 20, Ago - Dez. 2022. <https://doi.org/10.46551/rn2022132000062>

RESUMO

Melanoma cutâneo é um tumor de origem neuroectodérmica, abrangendo toda a epiderme. O tumor referido apresenta grande incidência e alta taxa de mortalidade, portanto é considerado como o câncer de pele muito importante na investigação médica. Verificar os efeitos do exercício resistido na expressão de IGF-2 de camundongos C57BL/6 com caquexia associada ao modelo tumoral singênico de melanoma cutâneo. Experimental, analítico, prospectivo e abordagem quantitativa. Foram utilizados 12 camundongos C57BL/6 fêmeas, com inoculação com células B16-F10 da linhagem de melanoma cutâneo. Sendo utilizados 12 camundongos C57BL/6J fêmeas, onde eles foram distribuídos aleatoriamente em 3 grupos. O primeiro grupo foi o controle (n=4), que não participou de nenhum tipo de intervenção, o segundo grupo sendo o grupo controle com indução tumoral (TUMOR) (n=4), não realizou nenhum tipo de intervenção e foi induzido a caquexia associada ao câncer, o terceiro grupo (TRTUMOR) (n=4) foi o de treinamento de escalada, realizando exercício resistido com estímulo de choque e também sendo induzido a caquexia associada ao câncer. A análise inferencial do estudo não apresentou diferença significativa. O tamanho do efeito foi classificado como grande (1,59), para o grupo CONTROLE vs TUMOR; muito grande (2,43) CONTROLE vs TRTUMOR e moderado (0,67) TUMOR vs TRTUMOR. Os resultados mostram que ocorreu um aumento não significativo da proteína IGF-2, porém, houve expressão da proteína nos ratos que praticaram atividade física.

Palavras-Chave: Melanoma cutâneo; Caquexia; Exercício Resistido.

ABSTRACT

Cutaneous melanoma is a tumor of neuroectodermal origin, covering the entire epidermis. The referred tumor has a high incidence and high mortality rate, therefore it is considered a very important skin cancer in medical investigation. To verify the effects of resistance exercise on IGF-2 expression in C57BL/6 mice with cachexia associated with the syngeneic tumor model of cutaneous melanoma. Experimental, analytical, prospective and quantitative approach. Twelve female C57BL/6 mice were used, inoculated with B16-F10 cells of the cutaneous melanoma lineage. Twelve female C57BL/6J mice were used, where they were randomly distributed into 3 groups. The first group was the control (n=4), which had not participated in any type of intervention, the second group being the control group with tumor induction (TUMOR) (n=4), which did not undergo any type of intervention and was induced to cancer-associated cachexia, the third group (TRTUMOR) (n=4) was climbing training, performing resistance exercise with shock stimulation and also being induced cancer-associated cachexia. The inferential analysis of the study showed no significant difference. Effect size was rated as large (1.59) for the

CONTROL vs TUMOR group; very large (2.43) CONTROL vs TRTUMOR and moderate (0.67) TUMOR vs TRTUMOR. The results show that there was a non-significant increase in the IGF-2 protein, however, there was expression of the protein in rats that practiced physical activity.

Key words: Cutaneous melanoma; Cachexia; Weathered Exercise.

RESUMEN

El melanoma cutáneo es un tumor de origen neuroectodérmico, cubriendo toda la epidermis. El referido tumor tiene una alta incidencia y alta tasa de mortalidad, por lo que se considera un cáncer de piel muy importante en la investigación médica. Verificar los efectos del ejercicio de fuerza sobre la expresión de IGF-2 en ratones C57BL / 6 con caquexia asociada al modelo de tumor singénico de melanoma cutáneo. Enfoque experimental, analítico, prospectivo y cuantitativo. Se utilizaron doce ratones hembra C57BL / 6, inoculados con células B16-F10 del linaje de melanoma cutáneo. Se utilizaron doce ratones hembra C57BL / 6J, donde se distribuyeron aleatoriamente en 3 grupos. El primer grupo fue el control (n = 4), que no había participado en ningún tipo de intervención, siendo el segundo grupo el grupo control con inducción tumoral (TUMOR) (n = 4), que no sufrió ningún tipo de intervención y fue inducida a la caquexia asociada al cáncer, el tercer grupo (TRTUMOR) (n = 4) fue el entrenamiento de escalada, la realización de ejercicios de resistencia con estimulación de choque y también la caquexia asociada al cáncer inducida. El análisis inferencial del estudio no mostró diferencias significativas. El tamaño del efecto se calificó como grande (1,59) para el grupo CONTROL vs TUMOR; muy grande (2,43) CONTROL vs TRTUMOR y moderado (0,67) TUMOR vs TRTUMOR. Los resultados muestran que hubo un aumento no significativo de la proteína IGF-2, sin embargo, sí hubo expresión de la proteína en ratas que practicaban actividad física.

Palabras clave: Melanoma cutáneo; Caquexia; Ejercicio resistido.

INTRODUÇÃO

Melanoma cutâneo é um tumor de origem neuroectodérmica, viabilizado no processo de embriogênese, abrangendo toda a epiderme, expressando uma alta capacidade de metástase (WAINSTEIN e BELFORT, 2004). O tumor referido apresenta grande incidência e alta taxa de mortalidade, portanto é considerado como o câncer de pele muito importante na investigação médica (NASER, 2011).

A maioria dos indivíduos com melanoma cutâneo desenvolve caquexia, sendo que cerca de 80% dos pacientes com câncer entram em estado de desnutrição calórico-proteica, numa proporção de declínio em 60% da massa corpórea, levando

a uma morbimortalidade do câncer e favorecimento a caquexia (DA SILVA, 2006; SILVA; SANTOS, 2009).

A degradação do tecido muscular esquelético, principal massa muscular afetada pela doença, leva automaticamente à piora do quadro, podendo chegar a 50% da massa corpórea (TISDALE, 1997). Estes desequilíbrios elevam as taxas de consumo de glicose (ARGILÉS; ALVAREZ, 1997), uma vez que a caquexia gera uma diminuição da lipase lipoproteica acarretando a hipertriacilgliceridemia e compromete a absorção de lipídeos pelos tecidos adiposos e musculares, desfavorecendo a estabilidade do músculo (GEORGE *et al*, 2007).

O fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), importante para a sustentação do processo de manutenção e hipertrofia muscular esquelética, apresenta-se no organismo por meio de duas formas distintas, IGF-1 e IGF-2 (MARTINELLI JÚNIOR, *et al*, 2002). Estudos demonstram que o treinamento resistido aumenta a ação da IGF-1, estabelecendo grande potencial trófico na musculatura esquelética (ATHERSON *et al*, 2005). A proteína IGF-2 viabiliza o crescimento das células musculares, realizando um grande papel na regulação do desenvolvimento fetal, proliferação tumoral e crescimento muscular esquelético (ERBAY *et al*, 2003).

O músculo esquelético age desde a adaptação funcional à atividade contrátil (DEWYS *et al*, 1980; GOULD *et al*, 2013). Estudos apontam que estas adaptações são refletidas por mudanças na expressão de proteínas contráteis e por modificações na função, visto que a perda progressiva de peso obtida na caquexia é um importante fator prognóstico para a sobrevivência ao câncer, uma vez que maior perda de peso está diretamente ligada a menor sobrevida (WIDRICK *et al*, 2022; DOS SANTOS *et al*, 2020).

Partindo desses parâmetros a pesquisa deve se fazer presente ao exercício resistido, quando analisamos a proposta de estudo de Gould e colaboradores (2013) (WIDRICK *et al*, 2022) que retrata o exercício resistido pode diminuir incidência da caquexia, porém não existem relatos na literatura científica, mas existem diversas pesquisas que apresentam situações de exercício resistido sobre hipertrofia muscular no estado de saúde saudável.

Portanto, buscando entender os mecanismos hipertróficos da estrutura muscular esquelética no quadro da caquexia associada ao câncer, o objetivo desse estudo foi de verificar os efeitos do exercício resistido na expressão de IGF-2 de camundongos C57BL/6 com caquexia associada ao modelo tumoral singênico de melanoma cutâneo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Caracterizações do Estudo e Cuidados Éticos

O estudo, caracterizado como quase experimental, prospectivo, analítico e de abordagem quantitativa, teve aprovação (processo 131, ano 2017) na Comissão de Ética em Experimentação e Bem-estar Animal da Universidade Estadual de Montes Claros (CEEBEA/Unimontes).

Utilizaram-se 12 camundongos C57BL/6 fêmeas e saudáveis com idade entre 10 e 12 semanas, com cerca de 20 ± 5 (cinco) gramas de peso corporal médio. Esses animais foram fruto do biotério do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes). Nesse biotério, os camundongos eram alojados em ambiente com temperatura ambiente ($22 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $60 \pm 5\%$, 12h de ciclos de claro/escuro e baixo nível sonoro < 40 dB, com livre acesso à água filtrada e ração balanceada (Purina-Labina®) contendo 50,3% de carboidratos, 41,9% de proteínas e 7,8% de gordura com um total de 2,18 kcal por cada 1g da ração. Os consumos de água e de ração pelos animais foram mensurados diariamente. Os animais eram alojados em grupos de 4 (quatro) animais em caixas de polipropileno autoclavável de dimensões de 414 x 344 x 168mm, com tampa em aço galvanizado e contendo separadores em aço inox (Zootech, modelo ZT 375). Todas as caixas eram forradas com maravalha, trocada três vezes por semana.

Formato experimental do estudo

Os camundongos foram distribuídos aleatoriamente em três grupos. O primeiro grupo foi o controle (n= 4), não realizou nenhum tipo de intervenção, o segundo grupo foi o controle com indução tumoral (TUMOR) (n= 4), não realizou nenhum tipo de intervenção e foi induzido a caquexia associada ao câncer, o

terceiro grupo (TRTUMOR) foi o de treinamento de escalada (n= 4), realizou-se exercício resistido com estímulo de choque e teve indução tumoral.

O desenho experimental iniciou-se com a inoculação do câncer modelo singênico cutâneo da linhagem B16-F10. O décimo dia após inoculação foi escolhido para estabelecimento do diagnóstico de caquexia em todos os animais, os critérios aqui utilizados foram os protocolados no estudo de Santos e colaboradores (2020).

Após diagnóstico da caquexia, o grupo de treinamento de escalada realizou sete sessões de treinamento resistido com duração de 30 minutos (cada sessão), ocorreu um intervalo de 48 horas entre as séries. Após 48 horas de realizada a última sessão de treinamento os animais de todos os grupos foram sacrificados.

Culturas de Células

Os animais C57Bl/6 foram indicados para experimentos para implante de tumores, com destaque para o modelo singênico de melanoma cutâneo com uso de linhagem de melanoma murino B16-F10 (BERKELHAMMER *et al*, 1982). Primeiramente, o camundongo C57Bl/6 foi imobilizado e submetido à tricotomia da região dorsal, próxima ao pescoço, em seguida foi verificada a ausência de sensibilidade dolorosa reflexa, após assepsia com álcool iodado, os animais foram inoculados com 5 (cinco) $\times 10^5$ células de melanoma murino B16-F10, ressuspensas em 50 μ L, na região subcutânea dorsal, próxima à base do pescoço (flanco) (Santos e colaboradores, 2020). 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 três a quatro dias (BERKELHAMMER *et al*, 1982; BERGMAN *et al*, 2013; TRUNA *et al*, 2011).

Instrumento e procedimento do exercício resistido

Utilizou-se uma escada 110 cm de altura, 18 cm de largura, dois cm entre os degraus e 80 graus de inclinação. O exercício resistido baseou-se na subida dos camundongos, na plataforma de saída aplicava-se um choque elétrico como estímulo para subir as escadas, nesta etapa era aplicada o choque nas quatro patas do animal com uma tensão elétrica de 20 volts a uma frequência de 45 Hertz durante seis séries de oito repetições, após cada serie o roedor tinha noventa segundos de intervalo entre as séries. Não teve uma sobrecarga externa, somente o peso do

próprio corpo, lembrando que ocorreu sete sessões com intervalos de 48 horas entre elas (RODRIGUES, 2018).

Análise de Expressão de Genes em Isolamento de RNA, Síntese de Cdna e Reação em Cadeia Quantitativa em Tempo Real-Polimerase em Cadeia (Qpcr)

O RNA total foi isolado usando Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA), de acordo com o protocolo do fabricante. A reação de transcrição reversa foi realizada usando o kit de pré-amplificação Superscript (Thermo-Fisher Scientific, Waltham, MA EUA). O RNA foi purificado por colunas e tratado com DNase I (Qiagen Sciences, Germantown, MA, EUA) para remover a contaminação do DNA genômico. A concentração de RNA foi medida por absorvância UV e amostras com uma razão A260 / 280 de $\geq 2,0$ (dois virgula zero) foram usadas posteriormente. As reações de qPCR foram configuradas em triplicado usando ensaios do gene TaqMan e amplificadas em um instrumento Applied Biosystems Step-One™ (Thermo-Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). As curvas de $\Delta\Delta\text{CCT}$ foram geradas usando ensaios do gene GAPDH como padrões internos. Um kit de ensaio gênico individual foi realizado para o gene IGF2.

O modelo interno com GAPDH foi executado nas mesmas condições de teste usadas para o gene investigado. qPCR foi realizado com 1 (um) mL da reação de transcrição reversa, a 94 ° C por 30 segundos, 55 ° C por 30 segundos e 72 ° C por 30 segundos. Para o gene, o número de ciclos necessários para a amplificação exponencial será determinado usando ciclos variados. Os amplicons foram separados em gel de agarose e transferidos para uma membrana de nylon. As curvas padrão foram geradas com quantidades conhecidas de cDNA e corridas com cada corrida de PCR (LIVAK e SCHMITTGEN, 2001). Os níveis de expressão gênica foram normalizados para o nível de expressão de GAPDH. O teste t emparelhado foi realizado para comparar o nível de expressão genética relativa de cada animal para determinar sua significância.

Tratamento de Dados

Todos 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% ($p < 0.05$). Após foi realizado o teste de *Shapiro-Wilk* para verificação da normalidade, posteriormente

selecionou-se o teste de Kruskal-Wallis, para mensurar o tamanho do efeito foi utilizando a classificação previamente descrita por Hopkins e colaboradores (2009).

RESULTADOS

A análise inferencial do estudo apresentado na figura 1A não apresentou diferença significativa. Na figura 1B mostra que tamanho do efeito foi classificado como grande (1,59), para o grupo CRONTOLE vs TUMOR; muito grande (2,43) CONTROLE vs TRTUMOR e moderado (0,67) TUMOR vs TRTUMOR.

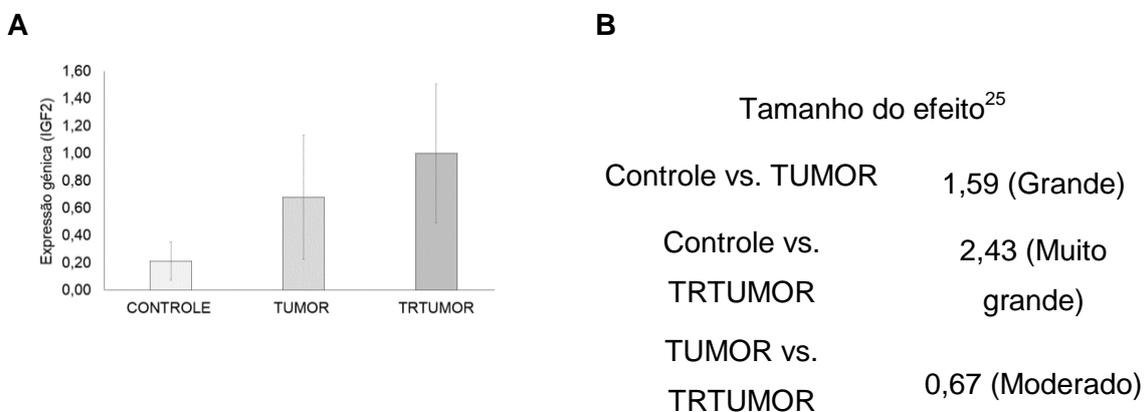


Figura 1 – Análise inferencial da expressão gênica da IGF2 nos grupos Controle (Sem tumor; sem intervenção de exercício resistido), Tumor (com tumor; não realizou intervenção) e TRTUMOR (Com tumor; realizou exercício resistido). No gráfico **A** foi realizado o Teste de Kruskal-Wallis onde não apresentou diferença significativa ($p=1,00$). No quadro **B** é apresentado o tamanho do efeito entre os grupos estudados.

Fonte: Próprio Autor

DISCUSSÃO

No presente estudo ocorreu um aumento não significativo da proteína IGF-2, porém, quando verificado a diferença entre o grupo controle, observou-se que a proteína se expressa ainda mais nos camundongos que praticaram atividade física. Cruzat e colaboradores (2008) demonstraram, que de maneira geral, o IGF é responsável pela estimulação do processo hipertrófico muscular. Outro estudo ainda relata que o efeito efetivo do GH depende da relação entre a combinação da proteína IGFs + GH + proteínas, sendo que onde há diminuição de substratos, há também a redução de GH, conseqüentemente atrelado à diminuição da massa muscular, força e resistência (CRUZ *et al*, 2010).

Pisa (2017) pesquisou o treinamento físico ao longo de uma temporada de treinos utilizando o eixo GH/IGF, demonstrando que a concentração de IGF-1 esteve relacionada de maneira positiva com o desempenho físico da amostra analisada. Ademais, achados de Vanzella (2017) encontraram forte associação na qual o exercício físico promoveu a captação de IGF-1 circulante pelo cérebro, além do hipotálamo.

CONCLUSÃO

Os resultados mostram que ocorreu um aumento não significativo da proteína IGF-2, porém, quando verificado a diferença entre o grupo controle, observou-se que a proteína se expressa ainda mais nos roedores que praticaram exercício resistido, pois o tamanho do efeito apresenta uma classificação grande e muito grande para camundongos que realizaram atividade física sistemática de característica neuromuscular. Apesar de haver lacunas que devem ser preenchidas, a atividade física resistida pode ser um formato experimental para propostas futuras com o objetivo de melhorar a expressão da IGF-2 e com isso reduzir os efeitos ocasionados com a caquexia.

REFERÊNCIAS

- Argilés, J.M.; Alvarez, B.; López-Soriano, F.J. The metabolic basis of cancer cachexia. **Medicinal research reviews**, (1997);17(5): 477-498. Doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1128\(199709\)17:5%3C477::AID-MED3%3E3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1128(199709)17:5%3C477::AID-MED3%3E3.0.CO;2-R)
- Atherson, P.J.; Barbra, J.; Smith, J.; Singh, M.; Renne, J.; Wackerhage, H. Selective activation of AMPK-PGG-lalpha or PKB-TSC2-mTOR signaling can explain adaptive responses to endurance or resistance training-like electrical muscle stimulation. **FASEB Journal**. Vol. 19. 2005.p.786-88.
- Bergman, D.; Halje, M.; Nordin, M; Engström W. Insulin-like growth factor 2 in development and disease: a mini-review. **Gerontology** (2013);59(3): 240-249. Doi: <https://doi.org/10.1159/000343995>
- Berkelhammer, J.; Oxenhandler, R. W.; Hook, R. R.; & Hennessy, J. M. (1982). Development of a new melanoma model in C57BL/6 mice. **Cancer research**, 42(8), 3157-3163. Disponível: <https://cancerres.aacrjournals.org/content/42/8/3157.article-info>
- Cruz, F.F.; Boff, L.V.; Silva, J.Z.; Cornely, F. **Relação do exercício físico com o hormônio do crescimento**. EFDeportes.com, Revista Digital.15. Num.151.2010.

Disponível: <https://www.efdeportes.com/efd151/exercicio-fisico-com-o-hormonio-do-crescimento.htm>. Acesso em: 22 mar. 2022

Cruzat V.F.; Donato Júnior J.; Tirapegui J.; Schneider C.D. Hormônio do crescimento e exercício físico: considerações atuais. **Revista brasileira de ciências farmacêuticas**, (2008);44(4): 549-562. Disponível:

<https://www.scielo.br/j/rbcf/a/sHkXqpGZtspzKgy9YwY3wDF/?lang=pt&format=pdf>

Silva M.P.N. Síndrome da anorexia-caquexia em portadores de câncer. **Revista brasileira de cancerologia**, (2006);52(1):59-77.

Doi: <https://doi.org/10.32635/21769745.RBC.2006v52n1.1910>

Dewys, W.D.; Begg, C.; Lavin, P.T.; Band, P.R.; Bennett, J.M.; Bertino, J.R.; Tormey, D.C. Prognostic effect of weight loss prior to chemotherapy in cancer patients. **The American journal of medicine**, (1980);69(4): 491-497. Doi:

[https://doi.org/10.1016/S0149-2918\(05\)80001-3](https://doi.org/10.1016/S0149-2918(05)80001-3)

Santos, K.L.; De Oliveira, T.R.; Lopes, J.V.N.; Freitas, A.S.; Vieira, M.M.; Oliveira Sousa, B.V.; Rodrigues, V.D. Efeito da atividade física em ambiente enriquecido sobre o músculo esquelético de camundongos com caquexia associado ao melanoma cutâneo. **Revista Pesquisa em Fisioterapia**, (2020);10(3): 436-441. Doi: <https://doi.org/10.17267/2238-2704rpf.v10i3.3016>

Erbay, E.; Park, I.H.; Nuzzi, P.D.; Schoenherr, C.J.; Chen, J. IGF-II transcription in skeletal myogenesis is controlled by mTOR and nutrients. **The Journal of cell biology**, (2003);163(5): 931-936. Doi: <https://doi.org/10.1083/jcb.200307158>

George, J.; Cannon, T.; Lai, V.; Richey, L.; Zanation, A.; Neil Hayes, D.; Couch, M. Cancer cachexia syndrome in head and neck cancer patients: Part II. Pathophysiology. **Head & Neck: Journal for the Sciences and Specialties of the Head and Neck**, (2007);29(5): 497-507. Doi: <https://doi.org/10.1002/hed.20630>

Gould, D.;W.; Lahart, I.; Carmichael, A.R.; Koutedakis, Y.; Metsios, G.S. Cancer cachexia prevention via physical exercise: molecular mechanisms. **Journal of cachexia, sarcopenia and muscle**, (2013);4(2): 111-124. Doi: 10.1007/s13539-012-0096-0

Hopkins, W.; Marshall, S.; Batterham, A.; Hanin, J. Progressive statistics for studies in sports medicine and exercise science. **Medicine+ Science in Sports+ Exercise**, (2009);41(1): 3. DOI: 10.1249/MSS.0b013e31818cb278

Livak, K.J.; Schmittgen, T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻ΔΔCT method. **Methods**, (2001);25(4): 402-408. Doi: <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>

Martinelli Júnior, C.E.; Oliveira, C.R.; Brito, A.V.D.O.; Costa, F.O.; Silva, P.R.; Serpa, M.G.; Aguiar-Oliveira, M.H. Diagnóstico da Deficiência de Hormônio de Crescimento, a Rigor de IGF-1. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, (2002);46: 27-33. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0004-27302002000100005>

Naser, N. **Melanoma cutâneo: estudo epidemiológico de 30 anos em cidade do sul do Brasil, de 1980-2009**. Anais Brasileiros de Dermatologia, (2011); 86:932-941. Disponível:

<https://www.scielo.br/j/abd/a/GsJdsQPZzzrTJ96BnCMdqQm/?format=pdf&lang=pt>

Pisa M.F. **Estudo dos possíveis efeitos do treinamento físico ao longo de uma temporada de treinamento sobre o eixo GH/IGF-I, proteínas de ligação dos IGFs em atletas de voleibol** (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo). 2017. Doi: 10.11606/D.109.2018.tde-04072018-092521

Rodrigues, V.D.R. **Efeitos do treinamento resistido na progressão tumoral e na ocorrência de caquexia associada ao modelo tumoral singênico murinho de melanoma cutâneo em camundongos C57BL/6**. 2018. 108f. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Montes Claros. Montes Claros, 2018.

Silva, E.; Santos, E.; Júnior, E. Terapia fotodinâmica no tratamento do câncer de pele: conceitos, utilizações e limitações. **Rev Bras Farm**, (2009);90(3): 211-7. Doi: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i1.11257>

Tisdale, M.J. Biology of cachexia. **Journal of the National Cancer Institute**, (1997);89(23): 1763-1773. Doi: <https://doi.org/10.1093/jnci/89.23.1763>

Trunova, G.V.; Makarova, O.V.; Diatropov, M.E.; Bogdanova, I.M.; Mikchailova, L.P.; Abdulaeva, S.O. Morphofunctional characteristic of the immune system in BALB/c and C57BL/6 mice. **Bulletin of experimental biology and medicine**, (2011);151(1): 99-102. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10517-011-1268-1>

Vanzella, C. **Efeitos do exercício físico sobre a memória e sobre parâmetros bioquímicos e moleculares no hipocampo e no músculo de ratos senescentes**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2017. Disponível: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/158166>

Wainstein, A.J.; Belfort, F.A. Conduta para o melanoma cutâneo. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, (2004);31(3):204-214. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-69912004000300011>

Widrick, J.J.; Stelzer, J.E.; Shoepe, T.C.; Garneer, D P. Propriedades funcionais das fibras musculares humanas após treinamento de resistência a curto prazo. **American Journal of Physiology- Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**. Vol. 2. 2002.p. R408-16.