

CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA E EFEITOS METABÓLICOS DO FACTOR DE NECROSE TUMORAL

J. MARTINS E SILVA

Instituto de Bioquímica. Faculdade de Medicina de Lisboa. Lisboa.

RESUMO

Inicialmente identificado pela actividade anti-tumoral, o Factor de Necrose Tumoral (TNF, de *tumor necrosis factor*) engloba, na realidade, dois tipos de polipéptidos (TNF α , ou caquexina, e o TNF β , ou linfotóxina), com propriedades bioquímicas semelhantes a nível metabólico e imunitário. Estas substâncias (reguladoras da inflamação, da imunidade e defesa à agressão) pertencem à família das citocinas, intervindo como mediadores da inter-comunicação celular. A caquexina é produzida como pro-hormona sendo activada por remoção de um péptido de 76 aminoácidos. A molécula activada (com 157 resíduos de aminoácidos) tem cerca de 28% da sua sequência idêntica à da linfotóxina. Ambas as citocinas são codificadas por genes diferentes (do cromossoma 6 no homem) e competem para receptores comuns. A caquexina é sintetizada por diversas células (fagocitárias e não-fagocitárias) activadas, sobretudo pelos macrófagos. A biossíntese da caquexina é desencadeada por diversos estímulos (nomeadamente os lipopolissacáridos, das cápsulas de bactérias Gram-negativas), após o que a substância em circulação interage com os receptores de elevada afinidade presentes nas membranas de tecidos normais, linhagens celulares transformadas ou células tumorais. A consequência da acção do TNF α (protecção ou lesão tecidual) dependem da concentração, duração da acção e presença de outros mediadores no ambiente celular. A caquexia (frequentemente associada a infecções graves e doenças tumorais) é atribuível à acção metabólica do TNF α . Esta citocina regula a actividade de diversas enzimas, aumentando o catabolismo lipídico (nas células adiposas) e o catabolismo glicídico (nos miócitos esqueléticos), a par da activação da gliconeogénese e biossíntese das proteínas da fase aguda (pelos hepatócitos). Uma das propriedades mais aliciantes da TNF α advém do seu potencial efeito na regressão tumoral, o que tem sido objecto de pesquisas intensas nos anos mais recentes. A caquexina induz a hemorragia e necrose tumoral por mecanismos ainda pouco esclarecidos. Este efeito poderia ser exercido a dois níveis: através de um intermediário desconhecido que lese as paredes vasculares (originando a hemorragia local), ou por actuação directa nas células tumorais (quer destruindo-as, inibindo-lhes o crescimento ou não tendo qualquer acção). No momento, a utilização terapêutica da TNF na doença tumoral é ainda limitada pelos seus principais efeitos secundários.

SUMMARY

Biochemical characterization and metabolic effects of the tumor necrosis factor

The tumor necrosis factor, preliminary identified because of its antitumor properties, refers to two kinds of similar polypeptides (TNF or cachectin, and TNF- β or lymphotoxin), which share some biological effects. Both substances, as members of the class of cytokines, play a role as mediators of inflammation and the cellular immune response. Human cachectin is produced as a prohormone and activated by cleavage of a 76 residue peptide. Mature cachectin (with comprises 157 aminoacid residues) share a 28% aminoacid sequence homology with lymphotoxin. Both cytokines are encoded by different genes of chromosome 6 and may compete for a common receptor. Cachectin is produced by a wide variety of cells (phagocytic and non-phagocytic), mainly by activated macrophages and monocytes. Different invasive stimuli (mainly lipopolysaccharide, a constituent of the Gram-negative bacteria's outer wall) activate cachectin biosynthesis, which is controlled chiefly at a post-transcriptional level. The newly synthesised cachectin remains associated as a transmembrane form, affecting their targets by direct cell-to-cell contact, or is actively secreted in the circulation to distant sites in the body, where it binds to high affinity cachectin receptor, on a variety of cell types. Cachectin exerts pleiotropic effects on normal, transformed, or tumoral cells. The biological effects mediate by cachectin may be beneficial or deleterious to the body, depending on the quantity produced, duration of cell exposure and further biochemical mediators in the environment of the target cells. Cachexin (frequently associated with severe infection and cancer) seems to be the result of a persistent exposure to raised levels of cachectin. This cytokine regulates the activities of different enzymes, thus increasing adipocyte lipolysis and skeletal myocyte glucose catabolism, and increasing hepatocyte gluconeogenesis and acute-phase protein biosynthesis. A very suggestive effect of cachectin is the anti-tumor activity. This cytotoxic-cytolytic effect include hemorrhage and necrosis of some tumor species through mechanisms still open to discussion. Eventually, two steps may be suggested, one that renders the tumor vessels susceptible to damage with subsequent hemorrhage, the second directly affecting the tumor cells, causing the cell death, inhibiting cell growth, or with no effect. However the therapeutical application of cachectin in cancer is still at preliminary stages and requires further studies that elucidate better the mechanism of action of that cytokine and eliminate most of its secondary toxicity.

INTRODUÇÃO

Nos fins do século passado, um clarividente cirurgião norte-americano, William Coley, constatou que os tumores de que sofriam alguns dos seus doentes cancerosos diminuam ou desapareciam quanto os portadores eram simultaneamente afectados por determinadas infecções bacterianas. Coley comprovou que, administrando vacinas de bactérias inactivadas, obtinha o mesmo efeito anti-tumoral, embora igualmente de forma inconstante¹.

Cinco décadas mais tarde veio a verificar-se que o produto bacteriano (endotoxina) que provocava a necrose tumoral era um componente da parede externa de bactérias Gram-negativas, quimicamente identificado como um lipopolissacárido (LPS). Estudos experimentais posteriores, por Old e Cols², demonstraram que o LPS não actuava directamente nas células tumorais mas através da produção, pelo hospedeiro, de um factor citotóxico de natureza proteica, identificável em circulação, designado Factor de Necrose Tumoral (TNF, de *Tumor Necrosis Factor*). Muito recentemente, Beutler e Cols³ revelaram que a sequência de aminoácidos do TNF era semelhante à da outra entidade molecular, a *caquexina*, implicada como mediador do estado de caquexia, que acompanha o desenvolvimento de doenças graves e crónicas consumptivas⁴.

Actualmente estão identificados dois tipos de TNF, um com origem principal nos monócitos activados/macrófagos (TNF α , ou caquexina) e o outro produzido pelos linfócitos (TNF β , ou linfotóxina), que evidenciam propriedades muito semelhantes entre si. Estas propriedades, de natureza hormonal, caracterizam-se por um conjunto de sinais interactivos regidos por moléculas de dimensões relativamente pequenas, que se designam, em conjunto, por citocinas. Estas substâncias regulam a sua própria formação e influenciam o crescimento e diferenciação celulares no âmbito da inflamação e imunidade, actuando como mediadores comuns na patogénese de diversas situações patológicas aparentemente dissociadas. Na realidade, o factor de necrose tumoral, além de participar nos mecanismos da remodelação tecidual e defesa do organismo (como mediador da resposta inflamatória/imunitária) está na origem de reacções fisiopatológicas extremas do hospedeiro, por vezes mortais⁵⁻⁷. Na presente revisão será abordado apenas o TNF α /caquexina, tendo em consideração que o efeito anti-tumoral é uma das propriedades biológicas reconhecidas daquela entidade molecular.

ESTRUTURA E SÍNTESE

A TNF α /caquexina de origem humana é um polipéptido não-glicosilado constituído por 157 aminoácidos, com 17 Kd de peso molecular⁸. Aproximadamente 30% da sequência primária da caquexina é homóloga à da linfotóxina⁹. A caquexina humana deriva de um precursor (pró-peptido) com 26 Kd; a remoção de uma sequência com 76 aminoácidos da extremidade aminada origina a TNF α ¹⁰. A forma activa da caquexina apresenta-se como um trímero compacto, que inclui três sub-unidades idênticas. Cada uma das sub-unidades, com 157 aminoácidos dispõe-se numa estrutura secundária β -pregueada, que confere ao conjunto um arranjo tridimensional semelhante ao das proteínas de revestimento viral¹¹.

A síntese do TNF α /caquexina é codificada por um gene identificado no braço curto do cromossoma 6 (no homem), na proximidade do gene para a linfotóxina e entre os genes do complexo *major* da histocompatibilidade de classe I e III¹². Concentrações mínimas de glicocorticoides (p.ex., dexametasona) inibem a transcrição genética da caquexina, assim como a mobilização e transdução do respectivo RNA mensageiro, desde que sejam administrados antes do estí-

mulo indutor. Pelo contrário uma outra citocina (o interferon α) tem efeito permissivo, favorecendo a síntese da caquexina¹³.

A caquexina é produzida por diversos tipos celulares com acção fagocitária e não-fagocitária, sob a acção de estímulos diversos^{6,14}. Todavia, as células de linhagem monocitária/macrófagos são as principais produtoras da caquexina³; são relativamente insignificantes as quantidades sintetizadas pelos restantes tipos celulares⁶. Nestes incluem-se os linfócitos T, grandes linfócitos granulados/NK, tímocitos, células B normais e malignas, células tumorais, miócitos lisos vasculares, fibroblastos transformados, células de Kupffer hepáticas e células cerebrais (astrócitos e da micróglia)^{7,14}.

É igualmente muito diversa a quantidade e qualidade dos estímulos que induzem a produção da caquexina; entre todos, os lipopolissacáridos bacterianos são claramente os mais potentes^{2,15}. São também estímulos importantes algumas toxinas bacterianas, vírus, antígenos (de fungos e parasitas) e outras citocinas (p.ex., a interleuquina-1), além do próprio TNF α ^{6,7,16}.

MECANISMOS DE ACÇÃO

A caquexina, sintetizada pelos macrófagos activados ou outras células produtoras, pode ser identificada no respectivo citoplasma, na membrana plasmática ou no meio extracelular¹⁰. A forma transmembranar, com 26 Kd, parece ser a precursora do componente secretado para o meio extracelular, com 17 Kd, que constitui, por si, um mediador parácrino com acção directa por contacto intercelular¹⁷. A forma de secreção, detectável em circulação, actua nas células-alvo que possuem receptores específicos⁸.

Têm sido identificados receptores de alta-afinidade para a caquexina na superfície de células normais (designadamente adipócitos, miócitos, hepatócitos, osteoclastos, endoteliais e linhagem leucocitária), células tumorais ou células em transformação^{8,18}.

A caquexina e a linfotóxina podem competir para o mesmo receptor. Os monócitos activados bem como os tímocitos, linfócitos B, miócitos lisos vasculares e algumas células tumorais, exibem características autócrinas, isto é, produzem caquexina mas expressam também receptores específicos que fixam a caquexina secretada^{16,18}. Esta estimulação autócrina poderá estar associada à indução e crescimento de tumores malignos.

No conjunto, cada receptor, com cerca de 300 Kd, é constituído por várias sub-unidades. A interacção receptor-caquexina ocorre ao nível de uma sub-unidade proteica da membrana de 80 Kd, após o que o receptor é rapidamente internalizado e degradado^{17,19}.

Aparentemente, não existe correlação entre o total de receptores presentes nas células-alvo e a resposta à caquexina¹⁸. Do mesmo modo, não há resposta celular que se possa considerar específica da caquexina. Há múltiplas respostas possíveis, contudo dependentes das vias de transdução de sinal, intrínsecas a cada tecido²⁰.

A expressão desses receptores para a caquexina encontra-se sob a acção de mecanismos da regulação positiva e negativa, reversíveis e extremamente rápidos, independentes da internalização ou encapsulação da molécula receptora²¹; Em algumas linhagens celulares foi possível evidenciar a intervenção antagónica de proteína-cinases A e C na capacidade de fixação do TNF ao receptor, e na própria síntese e secreção do TNF: enquanto que a proteína-cinase A aumenta a sensibilidade celular ao TNF exógeno¹⁰ a proteína-cinase C redu-la, a par da estimulação da secreção do TNF endógeno²¹. Os substractos celulares das proteínas-cinases induzidas pela caquexina são proteínas, deste modo rapidamente activadas ou inactivadas por fosforilação. As fosfoproteínas

resultantes parecem estar na origem de (pelo menos) parte dos sinais transmitidos para o citosol/membrana e núcleo, nas células afectadas pelo TNF.

A fixação da caquexina nos receptores da célula-alvo aumenta a fluidez e a permeabilidade da membrana (e, em consequência o influxo do cálcio no citoplasma), e activa a fosfolipase A₂ (com libertação do ácido araquidónico e produção da prostaglandina E₂); pelo menos parte dos seus efeitos citotóxicos são mediados pela proteína G (revisão em 20). Além dos efeitos induzidos a nível do citosol e/ou membrana plasmática, foi demonstrado que o TNF activa reacções de transferência de sinais (desde a membrana até ao núcleo) que envolvem a proteína G, as proteína-cinases A e C e, também, factores de transcrição nuclear. Estes factores (que parecem ser fosfoproteínas com cerca de 26 Kd, activadas no citosol por proteína-cinases), passam do citoplasma ao núcleo e, ao fixarem-se em determinadas sequências do DNA, modificam a expressão dos respectivos genes (constitutivos ou inductíveis) das células afectadas pelo TNF^{22,23}. A expressão do mesmo gene pode ser acentuada ou estimulada conforme a célula-alvo em que a caquexina actua²⁰. Na Fig. 1 é resumido o mecanismo geral de acção do TNF α a nível de uma célula-alvo hipotética.

ALGUNS EFEITOS BIOLÓGICOS

A caquexina induz cinco principais tipos de efeitos biológicos, de que se destacam, no Quadro 1, as propriedades mais incontroversas *in vitro* e/ou *in vivo*. Eventualmente, caquexina faz parte de um sistema fisiológico global que, ao mobilizar neutrófilos e reservas energéticas, tem acção crucial nos mecanismos de defesa do organismo contra agentes invasivos ou lesivos^{5,15}.

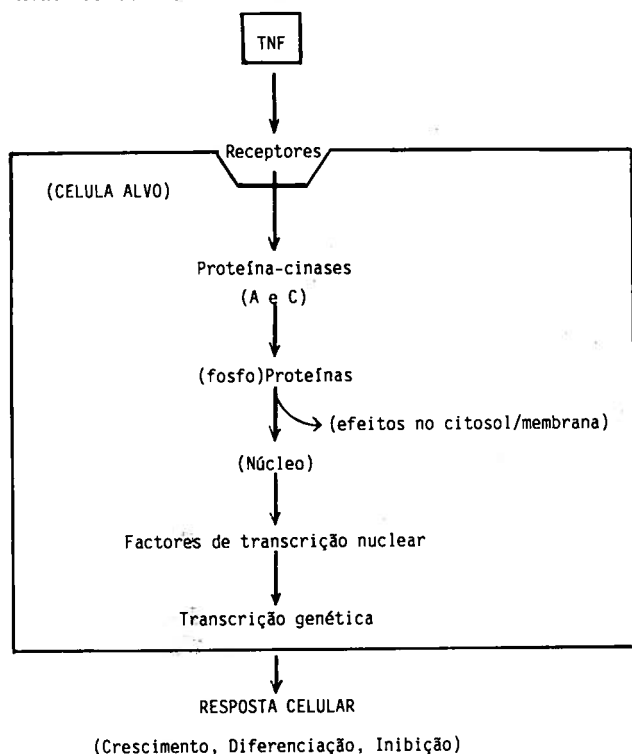


Fig. 1 — Mecanismo geral de acção do TNF α /caquexina numa célula-alvo, após fixação aos receptores da membrana plasmática. O sinal induzido é transmitido a substratos proteicos de citosol/membrana e transferido para o núcleo. Aqui, ao modificar a transcrição de determinada sequência genética, aumenta ou diminui a respectiva expressão fenotípica e funcional.

A reacção inflamatória e a imunidade representam parte da resposta complexa do organismo perante uma agressão.

Acção Inflamatória — A reacção de defesa transforma-se numa auto-agressão quando a caquexina é produzida em quantidades que excedem os limites da resposta fisiológica, originando quadros clínicos graves e, por vezes fatais⁴⁻⁷. A

QUADRO 1 — Alguns efeitos biológicos da caquexina

- 1 — Imuno-Reguladores
 - Aumento da proliferação dos linfócitos T e B, e da produção de imunoglobulinas²⁴
 - Aumento da diferenciação e crescimento dos linfócitos B²⁴
 - Aumento da capacidade fagocítica dos macrófagos e dos linfócitos NK^{10,25}
 - Diminuição da hematopoiese²⁵
 - Aumento da síntese de outras linfocinas e citocinas^{8,25}
 - Modulação da expressão de antígenos HLA²²
 - Aumento da imunidade anti-tumoral²⁶
- 2 — Antivirais
 - Diminuição do efeito citopatogénico dos vírus RNA e DNA²⁷
 - Diminuição da susceptibilidade às infecções virais^{25,28,29}
- 3 — Antitumorais
 - Diminuição do crescimento de células tumorais ou transformadas^{18,25}
 - Aumento da lise de células transformadas²⁵
 - Diminuição da expressão de proto-oncogenes nucleares²²
 - Aumento da necrose e lise tumoral^{8,30}
- 4 — Metabólicos
 - Aumento do catabolismo lipídico, proteico e glicídico³¹
 - Aumento da depleção das reservas lipídicas e proteicas³²
 - Aumento da desmineralização óssea²⁵
- 5 — Inflamatórios (Inespecíficos)
 - Acção febril³³
 - Aumento da síntese das proteínas de fase aguda⁸
 - Acção pro-coagulante endotelial³⁴
 - Aumento da capacidade adesiva endotelial³⁵
 - Aumento da actividade dos leucócitos polimorfonucleares³⁶

caquexia e o choque séptico são as consequências fisiopatológicas mais graves, reconhecidamente mediadas pela caquexina em excesso. De certo modo, estas repercussões fisiopatológicas reflectem a vertente tóxica da caquexina que, pela intensidade e prejuízos induzidos no portador, anula quaisquer possíveis benefícios iniciais da hormona.

A remodelação tecidual e a inflamação reflectem os efeitos benéficos induzidos por concentração baixa de caquexina. A remoção e substituição das partes senescentes dos tecidos são ocorrências naturais em que a caquexina intervém de dois modos: como agente citotóxico e como factor de crescimento³⁷.

Adicionalmente, a caquexina parece ser mediadora da cicatrização dos tecidos, actuando como factor de crescimento dos fibroblastos, induzindo a quimiotaxia das células endoteliais dos capilares e revelando capacidades angiogénicas significativas³⁸. Nos tumores, esta actividade angiogénica poderá favorecer-lhes o crescimento, embora esteja associada à acção citotóxica, que os destrói^{6,15}. Existe também alguma especulação sobre a influência que a caquexina, promovendo a neo-vascularização, exerce na evolução e rotura da placa aterosclerótica³⁹.

A caquexina pode ser considerada um mediador essencial da resposta inflamatória, com efeitos benéficos mas também ocasionando consequências potencialmente negativas para o organismo. O efeito obtido depende do tempo de acção e quantidades de caquexina produzida⁶. A reacção inflamatória baseia-se principalmente nos efeitos que a caquexina induz nos neutrófilos, células endoteliais, hepatócitos e tecido conjuntivo. Os neutrófilos activados pela caquexina adquirem maior capacidade fagocitária e citotóxica, a par da acentuada quimiotaxia (também evidenciada pelos macrófagos), maior produção de radicais de oxigénio, desgranula-

ção, leucostase e aderência ao endotélio nos locais da inflamação^{36,40-43}. A adesão dos leucócitos ao endotélio é muito rápida, independente da síntese proteica e inicia a rotura da camada endotelial, com migração dos neutrófilos para os espaços sub-endoteliais. Simultaneamente, a caquexina actua nas células endoteliais, induzindo-lhes a expressão dos antígenos de classe I *major* de histocompatibilidade, a (própria) capacidade adesiva para os leucócitos polimorfonucleares, uma actividade pró-coagulante e a síntese da interleuquina-1^{5,34,35,44,45}.

A adesividade dos leucócitos ao endotélio, particularmente em evidência nos focos inflamatórios é, assim, um efeito comum da caquexina, com duas origens diferentes: leucócitos ou células endoteliais. Contudo, ao contrário da adesividade iniciada pelos neutrófilos, a que é originada no endotélio envolve a estimulação da síntese proteica, bem como a expressão de alguns antígenos intervenientes nos fenómenos de adesão intercelular³⁵.

A par do efeito pró-coagulante^{34,35}, o endotélio exposto à acção da caquexina evidencia inibição da fibrinólise por diversos mecanismos: (i) supressão da libertação num activador do plasminogénio tipo-tecidual, (ii) indução de um inibidor (tipo I) do activador do plasminogénio e, (iii) por activação da proteína C, menor actividade da trombomodulina^{34,46,47}. Este efeito da caquexina é partilhado pela interleuquina-1, entretanto produzida pelo endotélio sob estimulação do TNF α ⁴⁵; a interleuquina-1, além de ser um factor febrígeno, é um importante mediador da inflamação, sendo sintetizado por grande diversidade de tipos celulares sujeito a agentes invasivos, lesões ou incompatibilidades antigénicas^{48,49}. O desequilíbrio que a caquexina induz no binómio hemostase-fibrinólise justifica as anomalias frequentemente observadas nas endotoxemias e algumas doenças neoplásicas: p.ex., é comum a formação de trombos nas superfícies endoteliais afectadas (contribuindo para a patogénese da coagulação intravascular disseminada), a ocorrência da necrose hemorrágica nos tumores (originalmente observada por Coley¹, e o desenvolvimento dos trombos migratórios naquelas situações clínicas^{6,30,34}. Em doentes com septicemia meningocócica, os níveis circulantes da caquexina eram proporcionais à coagulação intravascular⁵⁰. Entretanto, a administração de doses baixas de caquexina (recombinante) a voluntários normais confirmou a rapidez com que decorreu a activação (sub-clínica) da via comum da coagulação⁵¹.

Pelo exposto, poderá concluir-se que os efeitos da caquexina (nos leucócitos em circulação e nas células endoteliais) explicam muitos dos aspectos fisiopatológicos habitualmente associados ao aumento da produção ou administração experimental daquela hormona.

A acção fibrínica da caquexina tem duas origens: uma central, por acção directa nos neurónios hipotalâmicos e com subsequente produção da prostaglandina PGE₂, resultando a outra da indução periférica da interleuquina-1³³.

Uma outra resposta inflamatória inespecífica desencadeada pela caquexina (e também pela interleuquina-1) baseia-se na activação dos hepatócitos, com produção e secreção de diversas proteínas da fase aguda, em que se incluem factores de complemento (B e C₃), a α_1 -antiquimotripsina, o amiloide A sérico, o fibrinogénio, entre outras; entretanto, diminui a síntese hepática da albumina e transferrina^{52,53}. Foi recentemente sugerido que a indução *in vivo* das proteínas da fase aguda pela caquexina e interleuquina-1 era, na realidade, desencadeada (em parte) por um mediador hormonal, a interleuquina-6, derivada daquelas duas substâncias⁵⁴.

Adicionalmente, a caquexina participa nos fenómenos inflamatórios locais, com particular interesse no tecido conjuntivo; estão descritas concentrações elevadas da caquexina

no líquido sinovial de artropatias e inflamatórias, bem como um efeito catabólico nas células sinoviais e fibroblastos dérmicos, com produção exagerada da prostaglandina PGE₂ e colagenase^{6,55}.

Acção Imunológica — Enquanto que a inflamação poderá ser entendida como um processo que limita e repara as lesões, a imunidade neutraliza e previne as suas consequências específicas, num conjunto inseparável que constitui a defesa do organismo. Parte importante do efeitos multifacetados do TNF α /caquexina abrange a imunomodulação das células normais ou transformadas^{5,6,25,26}. De facto, a caquexina participa no desenvolvimento e diferenciação das células imunocompetentes, directamente ou através de outras citocinas^{23,56}. A caquexina transmembranar é responsável por um efeito citotóxico directo dos macrófagos, e aumenta a capacidade lítica dos linfócitos NK, isoladamente ou em conjunto com a interleuquina-2^{10,16,25}. Esta linfocina (que actua como factor de crescimento para os linfócitos T e B) é produzida pelos linfócitos T activados pela caquexina (e interleuquina-1); o interferon α e outros factores de crescimento coloniais da linhagem linfóide e mieloide são igualmente sintetizados nas mesmas condições da interleuquina-2⁵. Os linfócitos T activados produzem também a linfotóxina (ou TNF β), enquanto que os linfócitos B, sob a acção da caquexina (e interleuquina-1) participam na formação das imunoglobulinas²³. Entretanto, a caquexina influencia negativamente a eritropoiese^{31,57}, justificando em parte a anemia que acompanha as doenças crónicas⁵⁸. É ainda reconhecida a resposta imunitária anti-tumoral²⁶, aparentemente desencadeada pelo aumento da expressão dos antígenos HLA²². Finalmente, cabe realçar os efeitos anti-virais directos referidos para a caquexina²⁸, assim como o aumento da resistência⁵⁹ ou maior susceptibilidade^{27,29} à acção lítica da caquexina em células infectadas por vírus com acção no genoma do hospedeiro.

As reacções inflamatórias e imunológicas (que visam preservar a homeostasia do organismo perante condições hostis do meio) poderão exceder o limiar fisiológico e, consequentemente, ser causa de efeitos negativos. A intensidade da resposta fisiopatológica é virtualmente proporcional à concentração da caquexina produzida e em circulação⁵⁻⁷.

O choque séptico exemplifica as consequências de uma resposta imunológica extrema, potencialmente fatal, a um estímulo pré-determinado. Esta síndrome pode ser desencadeada no animal de experiência injectado com endotoxina bacteriana^{5,60}, ou caquexina pura em doses elevadas⁶¹. A administração prévia de um anticorpo anti-caquexina evita o desenvolvimento do choque séptico^{60,62}. Em consequência, poderá concluir-se que o choque séptico é provocado pela produção excessiva de caquexina nos animais de experiência ou em doentes com infecções graves.

Níveis séricos elevados de caquexina foram considerados sinais de mau prognóstico clínico na meningite meningocócica⁶³ e na púrpura fulminante por bactérias Gram-negativas⁵⁰. Também na hepatite fulminante⁶⁴, septicemias por diversas bactérias Gram-negativas⁶⁵ e em doentes infectados com vírus da imunodeficiência adquirida⁶⁶ foram referidos níveis elevados de caquexina. Em alguns estudos foi sugerido um limiar de valores séricos da caquexina que aferia o prognóstico clínico, com correlação aparente entre a concentração da caquexina sérica e a gravidade da doença^{50,63,66,67}. Porém, esta inferência nem sempre foi confirmada^{65,68}, sendo também questionável se o aumento da caquexina em semelhantes condições clínicas representa um mecanismo de defesa ou a consequência da agressão do hospedeiro com efeitos secundários indesejados.

A detecção de resultados falsos-positivos em indivíduos claramente saudáveis⁶⁸⁻⁷⁰, a par de valores normais de caquexina em alguns doentes com infecções graves^{65,69}, reforça as

dúvidas sobre o valor intrínseco do teste e evidencia bem as dificuldades técnicas ainda existentes.

A resposta a estas questões poderá condicionar o sucesso de algumas perspectivas terapêuticas, com base na utilização de inibidores da caquexina como meio de controlar o choque séptico⁶⁵ e outras situações graves, tais como as reacções da rejeição de transplantes pelo hospedeiro^{71,72} e a caquexia³¹.

Ação Anti-Tumoral — A expectativa que os estudos de Coley geraram sobre a terapêutica *natural* do cancro esteve na origem do enorme interesse e desenvolvimento inicial dos estudos sobre o TNF. Naturalmente, o grande objectivo dos ensaios clínicos convergiu na exploração da actividade anti-tumoral descrita para a caquexina^{8,22,25,30}. Todavia, apenas uma fracção reduzida de doentes com cancro evidencia níveis elevados de caquexina^{69,70,73}, a capacidade citolítica desta substância não abrange todos os tipos de células tumorais^{8,18} e, finalmente, a regressão tumoral por administração de caquexina tem sido reduzida a casos esporádicos^{73,74}. Aparentemente, o mecanismo de lise tumoral (nos casos em que tem sido observado) evidencia três etapas^{8,15}: (i) na primeira, a trombose vascular e a neovascularização, estimulada pela actividade pró-coagulante do endotélio, ocasionam o necrose hemorrágica, (ii) segue-se a actividade citostática-citolítica directa sobre as células tumorais, após o que (iii) a caquexina desencadeia a resposta imunitária anti-tumoral.

Não obstante as esperanças existentes, e mesmo que a caquexina recombinante administrada aos doentes cancerosos se revele completamente eficaz, a sua utilização terapêutica continuaria ainda a ser limitada pelos efeitos secundários muito intensos demonstrados, experimentalmente⁷⁵ e em doentes⁷³.

Ação Metabólica — A caquexia (caracterizada por marcada perda de peso corporal, resultante da diminuição dos depósitos lipídicos e atrofia muscular) é uma das consequências habituais das doenças crónicas e graves de natureza infecciosa ou neoplásica, e um dos principais efeitos descritos para o TNF^{25,31,32}. Está demonstrado que os efeitos metabólicos da caquexina incidem particularmente em três tipos celulares (adipócitos, miócitos esqueléticos e hepatócitos) mas com resultados distintos: enquanto que nos adipócitos e miócitos prevalece a activação do catabolismo dos lípidos e hidratos de carbono, respectivamente, nos hepatócitos predominam as biossínteses (da glicose *de novo*, das proteínas e dos lípidos). Aparentemente, a caquexina mobiliza a capacidade energética extra-hepática para que o fígado possa sintetizar as quantidades-extra de substâncias indispensáveis aos sistemas de defesa do organismo^{4,7}.

Nos primeiros estudos desenvolvidos sobre a caquexia das doenças crónicas, com recurso a coelhos injectados com tripanossomas, foi constatado que, a par de grande emagrecimento e anorexia, os animais apresentavam níveis de triglicéridos cerca de 10 vezes superiores aos dos controlos, justificados pela inibição da lipoproteína-lipase⁷⁶. Esta enzima, presente nos capilares adjacentes ao tecido adiposo e outros tecidos periféricos, hidrolisa os triglicéridos em circulação nos seus componentes (ácidos gordos e glicerol), os quais são captados pelas células próximas (sobretudo do tecido adiposo e músculo) para consumo ou depósito.

Em consequência da supressão da actividade da lipoproteína-lipase os triglicéridos (nos quilomicra e lipoproteínas de muita baixa densidade, VLDL), não são degradados e acumulam-se em circulação. A hipertrigliceridemia tem sido efectivamente confirmada em outros animais de laboratório injectados com caquexina (e também com interleuquina-1), por inibição da lipoproteína-lipase adjacente ao tecido adiposo^{77,79} e, em parte por activação da lipólise local, com aumento da secreção de VLDL do fígado⁷⁹. Outros estudos relacionam a hipertrigliceridemia com o aumento da lipogénese hepática^{80,81} o que, contudo,

tem sido considerado irrelevante para o aumento dos triglicéridos em circulação⁴. A caquexina seria também o factor responsável pela hipertrigliceridemia associada a infecções crónicas⁵ e situações clínicas equivalentes⁸².

In vitro, a caquexina diminui a actividade da lipoproteína-lipase em culturas de pré-adipócitos em diferenciação, ao interferir nos mecanismos da síntese enzimática⁸³, com redução do RNAm específico⁸⁴, a estimulação da lipólise seria outro dos efeitos da caquexina nos mesmos sistemas *in vitro*⁸⁵, contudo ambos nem sempre confirmados^{86,87}.

Entretanto, a administração da caquexina *in vivo* induz o aumento das concentrações da glicagina, da corticotropina e das catecolaminas em circulação⁶¹, havendo ainda referências à elevação paralela da insulina⁸⁸. Através destas variações do perfil hormonal podem ser justificadas algumas repercussões no metabolismo dos glicídios e proteínas.

A hiperglicemia e a hiperlactatemia são consequências habituais da administração da caquexina a animais de experiência^{89,90}, com prevalência do consumo da glicose (com aumento da glicólise anaeróbia) pelos tecidos ricos em macrófagos (pele, intestino, baço e fígado)⁹¹. Estes aspectos assemelham-se ao perfil da utilização da glicose na septicemia, ou após administração da endotoxina em doses sub-letais⁹².

In vitro, a caquexina estimula fortemente a glicogenólise muscular⁹³ e a gliconeogénese hepática⁴. Todavia, pelas discrepâncias observadas *in vitro*⁸⁶, admite-se que a utilização da glicose *in vivo* não seja directamente afectada pela caquexina.

O aumento da proteólise muscular é uma das consequências da administração da caquexina, em ratos³¹ e doentes com cancro disseminado⁸², porém não comprovado em preparações de músculo de ratos e murganhos *in vitro*⁹⁴. Entretanto, produtos celulares ou plasma colhidos de doentes ou animais com septicemia aumentam o catabolismo proteico de preparações musculares *in vitro*⁹⁵, sugerindo a intervenção de um outro tipo de citocinas em circulação.

A caquexina altera a síntese proteica nos hepatócitos, aumentando a produção das proteínas de fase aguda⁵² e diminuindo a síntese de outras, designadamente e da albumina e da transferrina^{51-53,95}, em parte através da interleuquina-6^{54,97}.

Ao aumento da síntese proteica corresponde uma maior captação de aminoácidos pelo fígado *in vivo*^{88,98}, mas não *in vitro*⁹⁸, o que sugere, novamente, a intervenção de um mediador da caquexina. A utilização dos aminoácidos captados pelo fígado na formação da glicose por gliconeogénese é um facto confirmado *in vivo*⁹⁹.

Em conjunto, a administração prolongada de doses sub-letais da caquexina a animais de experiência é causa determinante da caquexia progressiva, com anorexia, perda de peso, anemia, redução das massas proteicas e reservas lipídicas e, por vezes, a morte^{31,57}. Murganhos injectados com células tumorais produtoras de caquexina desenvolveram sinais característicos da caquexia típica dos estados tumorais¹⁰⁰. Parte das anomalias subsequentes à administração da caquexina puderam ser estudadas em ratos previamente injectados com anticorpos anti-TNF³¹.

Embora as alterações metabólicas reduzidas pela caquexina se assemelhem às que acompanham estados patológicos graves, e possam ser evitadas com anticorpos específicos, há ainda alguma incerteza sobre a relação causa-efeito entre aquela citocina e a caquexia resultante. Parte dessas dúvidas resultam da elevada percentagem de doentes com cancro⁷⁰, infecções ou parasitoses graves⁶⁹, em que não é possível detectar níveis elevados de caquexina sérica.

CONCLUSÕES

A caquexina é um polipéptido com funções próprias das citocinas e que actua em virtualmente todas as células somáticas, na sequência de estímulos diversos, com destaque para os agentes invasivos ou traumáticos. Os efeitos desenvolvidos (imunomoduladores, antivirais, antitumorais, metabólicos e inflamatórios, entre outros) podem ser benéficos ou prejudiciais ao organismo. O equilíbrio depende da quantidade de caquexina produzida, tempo de actuação e células-alvo em que mais incide o seu efeito. Concentrações baixas de caquexina participam na recuperação tecidual e reacções inflamatórias/imunológicas de defesa, enquanto que concentrações exageradas são causa frequente de deterioração tecidual, choque, caquexia e, eventualmente, morte. A utilização terapêutica da caquexia está em fase preliminar. Os resultados clínicos são limitados pelos efeitos secundários (grande toxicidade sistémica, hepática e hematológica). A imunização passiva e a utilização de anticorpos anti-caquexina têm conduzido a resultados promissores mas ainda em fase de ensaio experimental.

BIBLIOGRAFIA

1. COLEY W.B.: The treatment of malignant tumors by repeated inoculation of erysipelas. *Am J Med Sci* 1893; 105: 487-511.
2. CARSWELL E.A., OLD L.J., CASSE R.L., GREEN S., FORE N., WILLIAMSON B.: An endotoxin-induced serum factor that cause necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 3666-3670.
3. BEUTLER B., GREENWALD D., HULMES J.D., CHANG M., PAN Y.C.E., MATHISON J., ULEVITCH R., CERAMI A.: Identify of tumors necrosis factor and the macrophage-secreted factor cachectin. *Nature* 1985; 316: 552-554.
4. EVANS R.D., ARGILÉS J.M., WILLIAMSON D.H.: Metabolic effects of tumor necrosis factor- α (cachectin) and interleukin-1. *Clin Science* 1989; 77: 357-364.
5. BEUTLER B., CERAMI A.: Cachectin and tumor necrosis factor as two sides of the same biological coin. *Nature* 1986; 320: 584-588.
6. BEUTLER B., CERAMI A.: Tumor necrosis, caquexia, shock, and inflammation: a common mediator. *Ann Rev Biochem* 1988; 57: 505-518.
7. TRACEY K.J., VLASSARA H., CERAMI A.: Cachectin/tumor necrosis factor. *Lancet* 1989; 1: 1122-1126.
8. AGGARWAL B.B., AIYER R.A., PENNICA D., GRAY P.W., GOEDDEL D.V.: Human tumor necrosis factors: structure and receptor interactions. In: *TNF and Related Cytotoxins*. Ciba Foundation Symposium 1987, pages 37-47.
9. CAPUT D., BEUTLER B., HARTOG K., THAYER B., BROWN-SHIMER S., CERAMI A.: Identification of a common nucleotide sequence in the 3'-untranslated region of mRNA molecules specifying inflammatory mediators. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 1670-1674.
10. KRIEGLER M., PEREZ C., DeFAY K., ALBERT I., LU S.D.: A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: ramification for the complex physiology of TNF. *Cell* 1988; 53: 45-58.
11. JONES E.Y., STUART D.I., WALKER N.P.C.: Structure of tumor necrosis factor. *Nature* 1989; 338: 225-228.
12. SPIES T., MORTON C.C., NEDOSPASOV S.A., FIERS W., PIONS D., STROMINGER J.L.: Genes for the tumor necrosis factors α and β are linked to the human major histocompatibility complex. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 8699-8702.
13. BEUTLER B., TKACENKO V., MILSARK I., KROCHIN N., CERAMI A.: Effect of gamma interferon on cachectin expression by mononuclear phagocytes. Reversal of lpsd (endotoxin resistance) phenotype. *J Exp Med* 1986; 164: 1791-1796.
14. SCHLEUNING M., MUNKER R.: Tumor necrosis factor: an update on basic research and clinical application. *Klin Wochenschr* 1990; 68: 841-846.
15. OLD L.J.: Tumor necrosis factor. *Sc Amer* 1988; 258: 41-49.
16. PHILIP R., EPSTEIN L.B.: Tumor necrosis factor as immunomodulator and mediator of monocyte cytotoxicity induced by itself, gamma-interferon and interleukin-1. *Nature* 1986; 323: 86-89.
17. BAKOUCHE O., ICHINOSE Y., HEICAPPEL R., FIDLER I.J., LACHMAN L.B.: Plasma membrane associated tumor necrosis factor: a non-integral membrane protein possibly bound to its own receptor. *J Immunol* 1988; 140: 1142-1147.
18. SUGARMAR B.J., AGGARWAL P.E., HASS I.S., FIGARI M.A., PALLADINO JR., SHEPARD H.M.: Recombinant human tumor necrosis factor-alpha: effects in proliferation of normal and transformed cells in vitro. *Science* 1985; 230: 943-946.
19. IMAMURA K., SPRINGGS D., KUFE D.: Expression of tumor necrosis factor receptor on human monocytes and internalization of receptor bound ligand. *J Immunol* 1987; 139: 2989-2992.
20. KRONKE M., SCHÜTZE S., SCHEURICH P., MEICHLE A., HENSEL G., THOMA B., KRUPPA G., PFIZENMAIER K.: Tumor necrosis factor signal transduction. *Cell Signalling* 1990; 2: 1-8.
21. UNGLAUB R., MAXEINER B., THOMA B., PFIZENMAIER K., SCHEURICH P.: Down regulation of tumor necrosis factor sensitivity on modulation of TNF binding capacity by protein kinase C activators. *J Exp Med* 1987; 166: 1788-1797.
22. TORTI F.M., DIECKMANN B., BEUTLER B., CERAMI A., RINGOLD G.M.: A macrophage factor inhibits adipocyte gene expression; an in vitro model of cachexia. *Science* 1985; 229: 867-869.
23. PFIZENMAIER K., SCHEURICH P., SCHLTER C., KRONKE M.: Tumor necrosis factor enhances HLA-A, B, C and HLA DR gene expression in human tumor cells. *J Immunol* 1987; 138: 975-980.
24. KERHRL J., MILLER A., FRANCI A.: Effect of tumor necrosis factor on mitogen-activated human B cells. *J Exp Med* 1987; 166: 786-791.
25. BEUTLER B., CERAMI A.: Cachectin (tumor necrosis factor): a macrophage hormone governing cellular metabolism and inflammatory response. *Endocr Rev* 1988; 9: 57-66.
26. PALLADINO M.A., SHALABY M.R., KRAMER S.M., FER-RAIOLO B.L., BAUGHMAN R.A., DELEO A.B., CRASE D., MARAFINO B., AGGARWAL B.B., FIGARI I.S., LIGGITT D., PATTON J.S.: Characterization of the antitumor activities of human tumor necrosis factor- α and the comparison with other cytokines: induction of tumor-specific immunity. *J Immunol* 1987; 138: 4023-4032.
27. WONG G.H.W., KNOWKA J.F., SITES D.P., GOEDDEL D.V.: In vitro antihuman immunodeficiency virus activities of tumor necrosis factor- α and interferon gamma. *J Immunol* 1988; 140: 120-124.
28. WONG G.H.W., GOEDDEL D.V.: Tumor necrosis factors α and β inhibit virus replication and synergize with interferons. *Nature* 1986; 323: 819-822.
29. CHEN M.J., HOLSKIN B., STRICKLER J., GORNIACK J., CLARK M.A., JOHNSON P.J., MITCHO M., SHALLOWAY D.: Induction by EIA oncogene expression of cellular susceptibility of lysis by TNF. *Nature* 1987; 330: 581-583.
30. PROIETTI E., BELARDELLI F., DI VITO M., WOODROW D., MOSS J., SESTILI P., FIERS W.: Tumor necrosis factor α induces early morphologic and metabolic alterations in Friend leukemia cell tumors and fibrosarcomas in mice. *Int J Cancer* 1988; 42: 582-591.
31. TRACEY K.J., WEI H., MANOGNE K.R., FONG Y., HESSE D.G., NGUYEN H.T., KUO G.C., BEUTLER B., COTRAN R.S., CERAMI A., LOWRY S.F.: Cachectin/tumor necrosis factor induces cachexia, anemia, and inflammation. *J Exp Med* 1988; 167: 1211-1227.
32. STARNES H.F., WARREN R.S., JEEVANANDAM M., GABRILOVE J.L., LARCHIAN W., OETTGEN H.F., BRENNAN M.F.: Tumor necrosis factor and the acute metabolic response to tissue injury in man. *J Clin Invest* 1988; 82: 1321-1325.
33. DINARELLO C.A., CANNON J.G., WOLFSSON S.M.: TNF/cachectin is an endogenous pyrogen and induces production of IL-1. *J Exp Med* 1986; 163: 1437-1450.
34. NAWROTH P.P., STERN D.M.: Modulation of endothelial cell hemostatic properties by tumor necrosis factor. *J Exp Med* 1986; 163: 740-745.
35. GAMBLE J.R., HARLAN J.M., KLEBANOFF S.J., VADAS M.A.: Stimulation of the adherence of neutrophils to umbilical

- vein endothelium by human recombinant tumor necrosis factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 8667-8671.
36. DJEU J.Y., BLANCHARD D.K., RICHARDS A.C., FRIEDMAN H.: Tumor necrosis factor induction by *Candida albicans* from human natural killer cells and monocytes. *J Immunol* 1988; 141: 4047-4052.
 37. VLASSARA H., BROWNLEE M., MANOGUE K.R., DINARELLO C.A., PASAGIAN A.: Cachectin/TNF and IL-1 induced by glucose modified proteins: role in normal tissue remodeling. *Science* 1988; 240: 1546-1548.
 38. LEIBOVICH S.J., POLVERINI P.J., SHEPARD H.M., WISEMAN D.M., SHIVELY V., NUSEIR N.: Macrophage-induced angiogenesis is mediated by tumor necrosis factor- α . *Nature* 1987; 329: 630-632.
 39. BARATH P., FISHBEIN M.C., CAO J., BERENSON J., HELFANT R.H., FORRESTER J.S.: Detection and localization of tumor necrosis factor in human atheroma. *Am J Cardiol* 1990; 65: 297-302.
 40. BRONDY V.C., HARLAN J.M., ADAMSON J.W.: Disparate effects of tumor necrosis factor α/β /lymphotoxin on hematopoietic growth factor production and neutrophil adhesion molecule expressions by cultural human endothelial cells. *J Immunol* 1987; 138: 4298-4302.
 41. LARRICK J.W., GRAHAM D., TOY K., LIN L.S., SENYK G., FINDLY B.M.: Recombinant tumor factor causes activation of human granulocytes. *Blood* 1987; 69: 640-644.
 42. NATHAN C.F.: Neutrophil activation on biological surfaces: massive secretion of hydrogen peroxide in response to products of macrophages and lymphocytes. *J Clin Invest* 1987; 80: 1550-1560.
 43. BERGER M., WETZLER E.M., WALLIS R.S.: Tumor necrosis factor in the major monocyte product that increases complement receptor expression in nature human neutrophils. *Blood* 1988; 71: 151-158.
 44. LE J., VILCEK J.: Biology of disease. Tumor necrosis factor and interleukin-1: cytokines with multiple overlapping biological activities. *Lab Invest* 1987; 56: 234-248.
 45. BEVILACQUA M.P., POBER J.S., MAJEAU G.R., FIERIS W., COTRAN R.S., GIMBRONE M.A. JR.: Recombinant tumor necrosis factor induces procoagulant activity in culture human vascular endothelium: characterization and comparison with the actions of interleukin-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 4533-4537.
 46. SCHLEEF R.R., BEVILACQUA M.P., SAWDEY M., GIMBRONE M.A. JR., LOSDUTOFF D.J.: Cytokine activation of vascular endothelium: effect on tissue-type plasminogen activation and type I plasminogen activator inhibitor. *J Biol Chem* 1988; 263: 5797-5803.
 47. MOORE K.L., ESMON C.T., ESMON N.L.: Tumor necrosis factor leads to the internalization and degradation of thrombomodulin from the surface of bovine aortic endothelial cells in culture. *Blood* 1989; 73: 159-165.
 48. DINARELLO C.A.: Biology of interleukin-1. *FASEB J* 1988; 2: 108-115.
 49. STARNES H.F. JR.: Biological effects and possible clinical application of interleukin-1. *Semin Hematol* 1991; 28 (suppl. 2): 34-41.
 50. GIRARDIN E., GRAU G.E., DAYER J.M., ROUX-LOMBARD P., THE J5 STUDING GROUP, LAMBERT P.H.: Tumor necrosis factor and interleukin-1 in the serum of children with severe infections purpura. *N Engl J Med* 1988; 319: 397-400.
 51. VAN DER POLL T., BÜLLER H.R., TEN CATE H., WORTEL C.H., BAUER K.A., VAN DEVENTER S.J.H., HACK C.H., SANERWEIN H.P., ROSENBERG R.D., TEN CATE J.W.: Activation of coagulation after administration of tumor necrosis factor to normal subject. *N Engl J Med* 1990; 322: 1622-1627.
 52. RAMADORI G., SIPE J.D., DINARELLO C.A., MIZEL S.B., COLTEN H.R.: Pretranslational modulation of acute phase hepatic protein synthesis by murine recombinant interleukin-1 (IL-1) and purified human IL-1. *J Exp Med* 1985; 162: 930-942.
 53. PERLMUTTER D., DINARELLO C.A., PUNSAL P., COLTEN H.: Cachectin/tumor necrosis factor regulates hepatic acute-phase gene expression. *J Clin Invest* 1986; 78: 1349-1354.
 54. HEINRICH D.C., CASTELL J.V., ANDUS T.: Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J* 1990; 265: 621-636.
 55. DAYER J.M., BEUTLER B., CERAMI A.: Cachectin/tumor necrosis factor stimulates collagenase and prostaglandin E₂ production by human synovial cells and dermal fibroblasts. *J Exp Med* 1985; 162: 2163-2168.
 56. CHOUAIB S., BERTOGLIO J., BLAY J.Y., MARCHIOL F.C., FRADELIZI D.: Lymphokine activated killers generation pathways: synergy between tumor necrosis factor and interleukin-2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 6875-6879.
 57. MOLDAWER L.L., MARANO M.A., WEI H., FONG Y., SILEN M.L., KUO G., MANOGUE K.R., VLASSARA H., COHEN H., CERAMI A., LOWRY S.F.: Cachectin/tumor necrosis factor- α alters red blood cell kinetics and induces anemia in vivo. *FASEB J* 1989; 3: 1637-1643.
 58. CARTWRIGHT G.E.: The anemia of chronic disorders. *Semin Hematol* 1966; 3: 351-375.
 59. GOODING L.R., ELMORE L.W., TOLLEFSON A.E., BRADY H.A., WOLD W.S.M.: A 14,700 WM protein from the E₃ region of adenovirus inhibits cytolysis by tumor necrosis factor. *Cell* 1988; 53: 341-346.
 60. BEUTLER B., MILSARK I.W., CERAMI A.C.: Passive immunization against cachectin/tumor necrosis factor protects mice from lethal effect of endotoxin. *Science* 1985; 229: 869-871.
 61. TRACEY K.J., LOWRY S.F., FAHEY T.J. III, ALBERT J.D., FONG Y., HESSE D., BEUTLER B., MANOGUE K.R., CALVANO S., WEI H., CERAMI A., SHIRES G.T.: Cachectin/tumor necrosis factor induces lethal shock and stress hormone responses in the dog. *Surg Gynecol Obstet* 1987; 164: 415-422.
 62. TRACEY K.J., FONG Y., HESSE D.G., MANOGUE K.R., LEE A.T., KUO G.C., LOWRY S.F., CERAMI A.: Anti-cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. *Nature* 1987; 330: 662-666.
 63. WAGE A., HALSTENSON A., ESPEVIK T.: Association between tumor necrosis factor in serum and fatal outcome in patients with meningococcal disease. *Lancet* 1987; i: 355-357.
 64. MUTO Y., NOURI-ARIA K.T., MEAGER A., ALEXANDER G.J.M., EDDLESTON A.L.W., WILLIAMS R.: Enhanced tumor necrosis factor and interleukin-1 in fulminant hepatic failure. *Lancet* 1988; ii: 72-74.
 65. DE GROOTE M.A., MARTIN M.A., DENSEN P., PFALLER M.A., WENZEL R.P.: Plasma tumor necrosis factor levels in patients with presumed sepsis. *JAMA* 1989; 262: 249-251.
 66. LAHDEVIRTA J., MAURY C.P.J., TEPPA A.M., REPO H.: Elevated levels of circulating cachectin/tumor necrosis factor in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Med* 1988; 85: 289-291.
 67. GRAU G.G., TAYLOR T.E., MOLYNEUX M.E., WIRIMA J.J., VASSALLI P., HOMMEL M., LAMBERT P.H.: Tumor necrosis factor and disease severity in children with falciparum malaria. *N Engl J Med* 1989; 320: 1586-1591.
 68. MICHIE H.R., MANOGUE H.R., SPRINGS D.R., REVHAUG A., O'DWYER S., DINARELLO C.A., CERAMI A., WOLFF S.M., WILMORE D.W.: Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration. *N Engl J Med* 1988; 318: 1481-1486.
 69. SCUDERI P., STERLING K.E., LAM K.S., FINLEY P.R., RYAN K.J., RAY C.G., PETERSON E., SLYMEN D.J., SALMON S.E.: Raised serum levels of tumor necrosis factor in parasitic infection. *Lancet* 1986; ii: 1364-1365.
 70. BALKWILL F., OSBORNE R., BURKE F., NAYLOR S., TALBOT D., DURBIN H., TAVERNIER J., FIERIS W.: Evidence for tumours necrosis factor/cachectin production in cancer. *Lancet* 1987; ii: 1229-1232.
 71. HOLLER E., KOLB H.J., MOLLER A., KEMPENIN J., LIESANFELD S., PECHUMER H., LEHMACHER W., RUCKESCHEL G., GLEIXNER B., RIEDER C., LEDDEROSE G., BREHM G., MITTERMÜLLER J., WILMANN S.W.: Increased serum levels of tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) precede major complications of bone marrow transplantation. *Blood* 1989; 75: 1011-1016.
 72. MAURY C.P.J., TEPPA A.M.: Raised serum levels of cachectin/tumor necrosis factor alpha in renal allograft rejection. *J Exp Med* 1987; 166: 1132-1137.
 73. SELBY P., HOBBS S., VINER C., JACKSON E., JONES A., NEWELL D., CALVERT A.H., MCELWAIN T., FEARON K., HUMPHREYS J., SHIGA T.: Tumor necrosis factor in man: clinical and biological observations. *J Cancer* 1987; 56: 803-808.

74. CREAGAN E.T., KOVACH J.S., MOERTEL C.G., FRYTAK S., KVOLS L.K.: A phase I clinical trial of recombinant human tumor necrosis factor. *Cancer* 1988; 62: 2467-2471.
75. HAVELL E.A., FIER S.W., NORTH R.J.: The antitumor function of tumor necrosis factor (TNF): I. Therapeutic action of TNF against an established murine sarcoma is indirect, immunologically dependent, and limited by severe toxicity. *J Exp Med* 1988; 167: 1067-1085.
76. ROUZER C.A., CERAMI A.: Hypertriglyceridemia associated with *Trypanosoma brucei* infection in rabbits; role of defective triglyceride removal. *Molec Biochem Parasitol* 1980; 2: 31-38.
77. SEMB H., PETERSON J., TRAVERNIER J., OLIVECRONA T.: Multiple effects of tumor necrosis factor on lipoprotein lipase in vivo. *J Biol Chem* 1987; 262: 8390-8394.
78. EVANS R.D., WILLIAMSON D.H.: Tumor necrosis factor α (cachectin) mimics some of the effect of tumour growth on the disposal of [14 C] lipid load in virgin, lactating and litter-remover rats. *Biochem J* 1988; 256: 1055-1058.
79. ARGILÉS J.M., LOPEZ-SORIANO F.J., EVANS R.D., WILLIAMSON D.H.: Interleukin-1 and lipid metabolism in the rat. *Biochem J* 1989; 259: 673-678.
80. FEINGOLD K.R., GRUNFELD C.: Tumor necrosis factor- α stimulates hepatic lipogenesis in the rat in vivo. *J Clin Invest* 1987; 80: 184-190.
81. FEINGOLD K.R., SOUED M., STAPRANS I., GAVIN L.A., DONAHUE M.E., HUANG B.J., MOSER A.H., GULLI R., GRUNFELD C.: Effect of tumor necrosis factor (TNF) on lipid metabolism in the diabetic rat. *J Clin Invest* 1989; 83: 1116-1121.
82. STARNES H.F., WARREN R.S., JEEVANANDAM D., GABRILOVE J.L., LARCHIAN W., OETTGEN H.F., BRENNAN M.F.: Tumor necrosis factor and the acute metabolic response to tissue injury in man. *J Clin Invest* 1988; 82: 1321-1325.
83. KAWAKAMI M., PEKALA P.H., LANE M.D., CERAMI A.: Lipoprotein lipase suppression in 3T3-L1 cells by an endotoxin induced mediator from exudate cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79: 912-916.
84. CORNELIUS P., ENERBACK S., BJURSELL G., OLIVECRONA T., PEKALA P.H.: Regulation of lipoprotein lipase on mRNA content in 3T3-L1 cells by tumor necrosis factor. *Biochem J* 1988; 249: 765-769.
85. KAWAKAMI M., MURASE T., OGAWA H., ISHIBASHI S., MORI N., TAKAKU F., SHIBATA S.: Human recombinant TNF suppresses lipoprotein lipase activity and stimulates lipolysis in 3T3-L1 cells. *J Biochemistry* 1987; 101: 331-338.
86. ROFE A.M., CONYERS R.A.J., BAIS R., GAMBLE J.R., VADAS M.A.: The effects of recombinant tumor necrosis factor (cachectin) on metabolism in isolated rat adipocyte, hepatocyte and muscle preparations. *Biochem J* 1987; 241: 789-792.
87. KERN P.A.: Recombinant human tumor necrosis factor does not inhibit lipoprotein lipase in primary cultures of isolated human adipocytes. *J Lip Res* 1988; 29: 909-914.
88. WARREN R.S., STARNES H.F., ALCOCK N., CALVANO S., BREUNAN M.F.: Hormonal and metabolic response to recombinant human tumor necrosis factor in rat: in vitro and in vivo. *Am J Physiol* 1988; 255: E206-E212.
89. TRACEY K.J., BEUTLER B., LOWRY S.F., MERRYWEATHER J., WOLPE S., MILSARK I.W., HARIRI R.J., FAHEY T.J., ZENTELLA A., ALBERT J.D., SHIRES G.T., CERAMI A.: Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin. *Science* 1986; 234: 470-474.
90. TREDGET E.E., YU Y.M., ZHONG S., BURINI R., OKUSAWA S., GELFAND J.A., DINARELLO C.A., YOUNG V.R., BURKE J.F.: Role of interleukin-1 and tumor necrosis factor in energy metabolism in rabbits. *Am J Physiol* 1988; 255: E760-E768.
91. MÉSZÁROS K., LANG C.H., BAGBY C.J., SPITZER J.J.: Tumor necrosis factor increases in vivo glucose utilization of macrophage-rich tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 149: 1-6.
92. MÉSZÁROS K., LANG C.H., BAGBY C.J., SPITZER J.J.: In vivo glucose utilization by individual tissues during nonlethal hypermetabolic sepsis. *FASEB J* 1988; 2: 3083-3086.
93. LEE M.D., ZENTELLA A., PEKALA P.H., CERAMI A.: Effect of endotoxin-induced monokines on glucose metabolism in the muscle cell line L6. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 2590-2594.
94. MOLDAWER L.L., SVANINGER G., GELIN J., LUNDHOLM K.G.: Interleukin-1 and tumor necrosis factor do not regulate protein balance in skeletal muscle. *Am J Physiol* 1987; 253: C766-C773.
95. CLOWES G.H.A., GEORGE B.C., VILLEE C.A., SARAVIS C.A.: Muscle proteolysis induced by a circulating peptide in patients with sepsis or trauma. *N Engl J Med* 1983; 308: 545-552.
96. MOLDAWER L.L., ANDERSSON C., GELIN J., LUNDHOLM K.: Regulation of food intake and hepatic protein synthesis by recombinant-derived cytokines. *Am J Physiol* 1988; 254: G450-G456.
97. CASTELL J.V., GOMEZ-LECHON M.J., DAVID M., FABRA R., TRULLENQUE R., HEINRICH P.C.: Acute-phase response of human hepatocytes: regulation of acute-phase protein synthesis by interleukin-6. *Hepatology* 1990; 12: 1179-1186.
98. ROH M.S., MOLDAWER L.L., EKMAN L.G., DINARELLO C.A., BISTRAN B.R., JEEVANANDAM M., BRENNAN M.F.: Stimulatory effect of interleukin-1 upon hepatic metabolism. *Metabolism* 1986; 35: 419-424.
99. ARGILÉS J.M., LOPEZ-SORIANO F.J., WIGGINS D., WILLIAMSON D.H.: Comparative effects of tumor necrosis factor α (cachectin), interleukin- β and tumour growth on amino acid metabolism in the rat in vivo. Absorption and tissue uptake of α -amino [14 C] isobutyrate. *Biochem J* 1989; 261: 357-362.
100. OLIFF A., DEFEO-JONES D., BOYER M., MARTINEZ D., KIEFER D., VUOCOLO G., WOLFE A., SOCHER S.H.: Tumors secreting human TNF/cachectin induce cachexia in mice. *Cell* 1987; 50: 555-563.

Pedido de Separatas:
 J. Martins e Silva
 Instituto de Bioquímica
 Faculdade de Medicina de Lisboa
 1600 LISBOA