

ALEXANDRE ABILIO DE SOUZA TEIXEIRA

Exercício físico como sincronizador do ritmo circadiano no câncer

**São Paulo
2020**

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

ALEXANDRE ABILIO DE SOUZA TEIXEIRA

Exercício físico como sincronizador do ritmo circadiano no câncer

Tese apresentada a Pós-Graduação do Programa de Biologia de Sistemas do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do grau de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Biologia Celular, Tecidual e do Desenvolvimento

Orientador: Professor Dr. José Cesar Rosa Neto

Versão Original

**São Paulo
2020**

De Souza Teixeira AA. Exercício físico como sincronizador do ritmo circadiano no câncer. [Tese (Doutorado em Biologia Celular, Tecidual e do Desenvolvimento)] – São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2020.

RESUMO

Alterações do ritmo circadiano estão relacionadas ao desenvolvimento e crescimento do câncer e os mecanismos moleculares subjacentes a este efeito ainda precisam ser mais estudados. No entanto, sabe-se que o exercício físico pode sincronizar o ritmo circadiano, atuando na modulação do sistema psiconeuroimunoendócrino. O desenvolvimento do tumor, por sua vez, promove alterações no equilíbrio desse sistema resultando em perturbação do ritmo circadiano. Um programa regular de exercício físico pode ser uma intervenção útil e de baixo custo como estratégia para melhorar a qualidade de vida de pacientes e sobreviventes do câncer. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar se os mecanismos envolvidos na inibição do crescimento tumoral pelo treinamento físico podem estar associados com o papel cronomarcador do exercício físico. **Métodos:** Foram utilizados camundongos da linhagem C57BL/6J divididos em 4 grupos: controle (CTL); Tumor (LLC); Tumor + Treino no mesmo horário do dia (LLC+T(ZT2)); Tumor + Treino em horários alternados (LLC+T(ZTAlt)). Os animais foram submetidos ao treinamento aeróbio no terceiro dia após a inoculação do tumor. Foram realizadas 14 sessões de treino, compreendendo 5 sessões na primeira e 5 sessões na segunda semana e 4 sessões na terceira semana (60 minutos a 60% da velocidade máxima). Os animais foram eutanasiados com 21 dias após inocular o tumor, a cada 4 horas do dia, até completar 24 horas (ZT0, ZT4, ZT8, ZT12, ZT16 e ZT20). No músculo esquelético gastrocnêmio foram feitas as análises da expressão gênica dos *clock genes* (Clock, Bmal1, Per1, Per2, Per3, Cry1, Cry2, REV ERB α , Rora e Ror β), Ampk, Atrogina-1, Murf1 e GAPDH. A determinação das concentrações de TNF- α , IL-1 β , MCP-1, IFN- γ , VEGF, IL-10 e IL-4 foram realizadas no músculo gastrocnêmio e no tumor. **Resultados:** O treino reduziu o peso total quando comparado com o grupo LLC. Apenas o grupo LLC+T(ZTAlt) teve redução no peso quando comparado com o grupo CTL. O peso do tumor foi menor no grupo LLC+T(ZTAlt) quando comparado com o grupo LLC. Os músculos EDL e sóleo apresentaram maior peso no grupo LLC+T(ZT2) quando comparado com o grupo LLC. O exercício em diferentes horários reduziu a concentração de glicose quando comparado com o grupo LLC (ZT8). O treinamento físico praticado em horários alternados foi capaz de aumentar a expressão no gene Per1 (ZT4) quando comparado com os grupos sedentários. O grupo LLC+T(ZT2) teve aumento da expressão de Per2 quando comparado com o grupo CTL no ZT0 e ZT4, já o grupo LLC+T(ZTAlt) apresentou aumento do Per2 quando comparado com o grupo CTL e LLC apenas no ZT4. Na análise feita no gene Per3, o grupo LLC+T(ZTAlt) apresentou maior expressão no ZT4 quando comparado com os grupos CTL e LLC. A expressão gênica da AMPK foi aumentada no período claro e a Atrogina-1 reduzida, ambos no grupo LLC+T(ZT2). Atrogina-1 estava aumentada no grupo LLC+T(ZTAlt) no ZT20 quando comparado com o grupo CTL. Ainda no músculo gastrocnêmio, a concentração proteica do TNF- α foi maior no grupo LLC(ZT16) quando comparado com os grupos CTL e LLC+T(ZTAlt). Já o VEGF estava aumentado no grupo LLC quando comparado com o grupo LLC+T(ZTAlt). A IL-10 (ZT16) estava aumentada no grupo LLC quando comparado com os grupos CTL e LLC+T(ZT2 e ZTAlt). No mesmo ZT o grupo

LLC+T(ZTAlt) apresentou menor concentração da IL-10 quando comparado com o grupo CTL e LLC+T(ZT2). A IL-4 apresentou aumento da concentração no ZT16 no grupo LLC+T(ZT2) quando comparado com os grupos CTL e LLC+T(ZTAlt). No tumor, TNF- α mostrou efeito do exercício físico em horários alternados, com aumento no grupo LLC+T(ZTAlt) no ZT16 quando comparado com o grupo LLC+T(ZT2). A IL-10 e IL-4 também foram mais expressas no grupo LLC+T(ZTAlt)(ZT4). **Conclusão:** O exercício físico mostrou ser um grande modulador do relógio circadiano no músculo esquelético, promovendo efeitos protetores ao músculo, além de atenuar o crescimento tumoral.

Palavras chave: Ritmo Circadiano, Câncer, Clock Genes, Músculo Esquelético, Inflamação, Exercício Físico.

De Souza Teixeira AA. Physical exercise as a circadian rhythm synchronizer in cancer. [Thesis (PhD in Cellular, Tissue and Developmental Biology)] - São Paulo: Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo; 2020.

ABSTRACT

Background: Changes in circadian rhythm are related to cancer development and growth, however the molecular mechanisms underlying this effect need to be further studied. It is known that physical exercise can synchronize the circadian rhythm, since it acts in the modulation of the psychoneuroimmunoendocrine system. The development of the tumor, in turn, promotes changes in the balance of this system resulting in a disturbance of the circadian rhythm. Thus a regular exercise program can be a useful and a low-cost intervention as a strategy to improve the quality of life of cancer patients and survivors. Therefore, our objective was to evaluate whether the mechanisms involved in the inhibition of tumor growth by physical training can be correlated with the chronological role of physical exercise. **Methods:** C57BL / 6J mice were used, divided into 4 groups: control (CTL); Tumor (LLC); Tumor + Training at the same time of day (LLC + T(ZT2)); Tumor + Training at alternate times (LLC + T(ZTAlt)). The animals were submitted to aerobic training on the third day after tumor inoculation. 14 training sessions were carried out comprising 5 sessions / week (40 to 60 minutes at 60% of maximum speed). The animals were euthanized 21 days after inoculating the tumor, every 4 hours of the day, until completing 24 hours (ZT0, ZT4, ZT8, ZT12, ZT16 and ZT20). In the gastrocnemius muscle, analyzes of the gene expression of the clock genes were performed (Clock, Bmal1, Per1, Per2, Per3, Cry1, Cry2, REV-ERB α , Ror α and Ror β), Ampk, Atrogin-1, Murf1 and GAPDH. The determination of the concentration of TNF- α , IL-1 β , MCP-1, IFN- γ , VEGF, IL-10 and IL-4 were performed in the gastrocnemius muscle and in the tumor. **Results:** The training reduced the total weight when compared with the LCC group, and only the LLC + T(ZTAlt) had a reduction in weight when compared with the CTL group. The tumor weight was lower in the LLC+T(ZTAlt) group when compared to the LLC group. The EDL and soleus muscles presented greater weight in the ZT2 group when compared to the LLC group. Exercise at different times also reduced glucose concentration when compared to the LLC group (ZT8). The physical training practiced at alternated times was able to increase the expression in the Per1 gene (ZT4) when compared with sedentary groups. The group that trained in ZT2 had an increase in Per2 expression when compared with the CTL group in ZT0 and ZT4, whereas the group with alternate training showed an increase in Per2 when compared with the CTL and LLC group only in ZT4. On the Per3 gene, the LLC+T (ZTAlt) group showed a higher expression in ZT4 when compared with the CTL and LLC groups. The gene expression of AMPK was increased in the light period and Atrogin-1 reduced, both in the LLC+T(ZT2) group. Atrogin-1 was increased in the LLC+T(ZTAlt) group in the ZT20 when compared to the CTL group. Also in the gastrocnemius muscle, the protein expression of TNF- α was higher in the LLC group (ZT16) when compared with the CTL and LLC+T(ZTAlt). VEGF was increased in the LLC group when compared to the LLC+T(ZTAlt). IL-10(ZT16) was increased in the LCC group when compared to the CTL and LLC+T groups (ZT2 and Alt). In the same ZT, the LLC+T(ZTAlt) group showed a lower expression of IL-10 when

compared to the CTL and LLC + T(ZT2) group. IL-4 showed an increase in ZT16 expression in the LLC +T(ZT2) group when compared with the CTL and LLC+T(ZTAlt) groups. In the tumor, TNF- α was affected by exercise, being increased in the group that trained at alternate times (ZT16) when compared with the LLC+T(ZT2). And IL-10 and IL-4 were also more expressed in alternate exercise (ZT4). **Conclusion:** Physical exercise proved to be a major modulator of the circadian clock in skeletal muscle, promoting protective effects to the muscle, in addition to attenuating tumor growth.

Keywords: Circadian Rhythm, Cancer, Clock Genes, Skeletal Muscle, Inflammation, Physical Exercise.

1 INTRODUÇÃO

A sociedade atual apresenta peculiaridades que são responsáveis pelas mudanças no relógio biológico que os seres humanos apresentavam até o fim do século XIX. Neste sentido, vale ressaltar que apesar do aumento da longevidade observado durante o século XX, período este em que praticamente dobrou a expectativa de vida dos seres humanos, a redução do número de pessoas residentes na zona rural, e o rápido aumento dos grandes centros urbanos promoveu mudanças no ritmo biológico da nossa espécie(1–3).

É fato que este problema vem se acentuando no século XXI, com o crescente avanço da tecnologia, ocorre a utilização constante de aparelhos eletrônicos, aumentando a exposição à luz proveniente destes, assim como, o aumento no nível de ruídos e barulhos, além da possibilidade de receber e enviar informações 24 horas por dia tem causado perturbações no ritmo circadiano (1–3). Atualmente, estamos passando por um momento complicado devido a pandemia do COVID-19, com isso muitas pessoas estão trabalhando de suas próprias casas, os horários para o início e o fim das tarefas foram alterados, o tempo na frente dos computadores aumentou, levando a uma jornada maior de trabalho diário, e como consequências, frequentes mudanças nos hábitos e horários alimentares, assim como o aumento da inatividade física, contribuindo para uma alteração ou perturbação no ritmo circadiano.

A crônica exposição à luminosidade dos grandes centros urbanos é capaz de reduzir a produção de melatonina. Na presença de luz, essa informação é transportada da retina pelas células ganglionares da retina intrinsecamente fotossensíveis através do trato retino-hipotalâmico até o núcleo supraquiasmático no hipotálamo, esse sinal de presença de luz é conduzido até a glândula pineal, por meio da qual a produção e secreção rítmica de melatonina são reduzidas, levando ao prejuízo da resposta circadiana, sendo esse um dos principais mecanismos de regulação do nosso ciclo sono-vigília(4).

Não obstante, observa-se que para a manutenção das atividades da nossa sociedade houve um aumento considerável no número de trabalhadores que tem que realizar seu trabalho no turno invertido, ou seja, no período noturno para nós humanos, causando privação de sono constante. Neste caso, esses trabalhadores apresentam grande aumento no número de dias afastados do trabalho, seja por morbidades ou acidentes de trabalhos. Dentre as morbidades, pode ser destacado o aumento no

número de doenças associadas à inflamação crônica de baixo grau, como doenças cardiovasculares, obesidade, diabetes e câncer(5).

A perturbação circadiana constante é sem dúvida nenhuma um fator de risco para o desenvolvimento do câncer(6). Novamente, os estudos envolvendo trabalhadores por turno mostram o alto risco desses sujeitos desenvolverem vários tipos de tumores(7–9). Tem sido mostrado na literatura que durante a progressão do câncer há uma perturbação circadiana, ocorrendo mudanças em muitas tarefas controladas pelo relógio central (núcleo supraquiasmático) ou periférico (tecidos e células) e orquestradas pelos *clock genes*(10).

Existem padrões de comportamentos que são capazes de reajustar a nossa ritmicidade biológica, como por exemplo hábitos alimentares, atividade física e rotinas de trabalho. Hoje discute-se os benefícios de se ter uma rotina rigorosa, com o mesmo horário para as refeições, por exemplo, já que a ingestão de nutrientes é um marcador do ritmo circadiano, e que em nossa sociedade moderna também vem sendo alterado, já que muitas pessoas não são capazes de manter rotina e um padrão alimentar(11).

O treinamento físico é um fator sincronizador do ritmo circadiano, apesar do mecanismo molecular não estar claro, já há o consenso de que as células musculares apresentam padrão de expressão rítmica de suas proteínas, assim da sua atividade(12). Assim, o treinamento físico aeróbio pode ser uma ferramenta não-farmacológica capaz de reduzir os danos causados pela perturbação do ritmo circadiano e de muitos processos biológicos, sendo considerado os possíveis mecanismos pelos quais o treinamento físico é capaz de reduzir o surgimento de diversos tipos de tumores, e também uma redução na capacidade proliferativa dos mesmos(13).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Ritmo Circadiano

A cronobiologia é um campo da biologia que examina a geração de ritmos biológicos em diferentes espécies e em muitas partes do corpo, e sua adaptação aos fenômenos periódicos relacionados ao ciclo claro e escuro ou ao sol e lua(14). Esse ritmo diário previsível e robusto na disponibilidade de alimentos e fatores ambientais levou à evolução de um mecanismo de tempo interno de aproximadamente 24 horas,

denominado de ritmo circadiano, permitindo que os organismos antecipem as mudanças diárias e aperfeiçoem o condicionamento físico(15).

O ritmo circadiano é controlado por relógios circadianos que estão presentes em quase todos os tecidos dos mamíferos. O relógio principal ou central está localizado no núcleo supraquiasmático(SCN), no hipotálamo, uma pequena região do cérebro contendo 10.000-15.000 neurônios(16,17). Desta forma, o relógio central com a colaboração de outros relógios periféricos (tecidos e células) permite a manutenção do ritmo circadiano, e que pode ser alterada, por fatores externos como luz, atividades sociais, alimentação(16,18) e atividade contrátil (exercício físico)(19–21). O relógio circadiano é controlado através da interação entre um ciclo de retroalimentação (feedback loop) dos genes circadianos no núcleo de todas as células do corpo(17).

O funcionamento do relógio circadiano envolve mecanismos de retroalimentação negativa (*the negative feedback loop*). Os genes Clock (*Circadian Locomotor Output Cycles Kaput*) e Bmal1 (*Brain And Muscle Arnt-Like Protein 1*) formam um heterodímero, funcionando como fator de transcrição para a expressão dos genes Period(Per1, 2 e 3), Cryptochrome(Cry 1 e 2), Rev-Erb(α e β) e Ror(α , β e γ)(22). Per e Cry após a tradução, formam oligômeros que são transportados do citoplasma para o núcleo, onde bloqueiam a sua própria transcrição ao inibir a ação do Clock/Bmal1. Outro mecanismo regulatório é induzido pelo complexo heterodimérico Clock/Bmal1 que ativam a transcrição de receptores nucleares órfãos (Rev-Erb e Ror) (23–25). Rev-Erb (α e β) e Ror (α , β e γ) subsequentemente competem pelo ROREs (*Retinoic Acid-Related Orphan Receptor Response Elements*), presentes no promotor de Bmal1. Ror ativa a transcrição de Bmal1(25–27), enquanto Rev-Erb reprime o processo de transcrição(23,27). Assim, a oscilação circadiana de Bmal1 é tanto positivamente quanto negativamente regulada por Rors e Rev-Erbs(9). Em humanos, um ciclo circadiano tem início geralmente nas primeiras horas da manhã com a ativação da transcrição de Per e Cry por Clock/Bmal1. Os níveis de transcrição atingem seu ápice por volta de meio dia e os níveis de proteína citoplasmática atingem seu apogeu cerca de duas horas depois(17,22) (Figura 1).

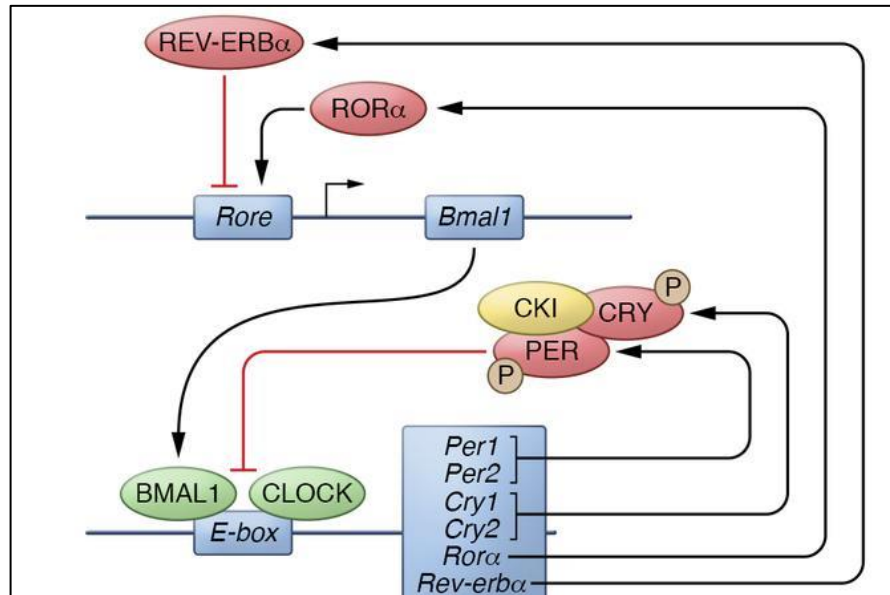


Figura 1. Os heterodímeros dos fatores de transcrição BMAL1 e CLOCK aumentam a expressão de muitos genes alvo. Destes, os produtos proteicos dos genes Período (Per) e Cryptochrome (Cry) fornecem um mecanismo de retroalimentação para inibir a atividade transcricional do Clock-Bmal1. A atividade dos dímeros Per-Cry é regulada no nível pós-transcricional por fosforilação pela caseína quinase 1 ϵ (CKI). Outros alvos genéticos de Clock-Bmal1 incluem os receptores órfãos Ror e Rev-Erb que, respectivamente, promovem e inibem a transcrição de Bmal1. Além desses componentes principais do relógio genético, o Clock-Bmal1 regula a expressão de vários alvos a downstream que são chamados de genes controlados do relógio (CCGs). Adaptado de (22).

2.2 Ritmo Circadiano e Câncer

O relógio circadiano constitui uma maquinaria molecular evolutiva que dita a regulação temporal da fisiologia para manter a homeostase. Oscilações diárias comportamentais e fisiológicas são acionadas por um relógio circadiano endógeno, que por muitas vezes pode sofrer influências externas (do meio ambiente). Nas sociedades modernas, as mudanças no estilo de vida, levam à interrupção frequente da homeostase circadiana endógena(28). Essa interrupção do ritmo circadiano desempenha um papel fundamental no desenvolvimento e crescimento tumoral. Por outro lado, os processos oncogênicos enfraquecem diretamente o ritmo circadiano (6)

Em humanos, a interrupção circadiana encontrada em trabalhadores por turnos os coloca em risco aumentado de câncer de mama(8) e próstata(9). Além disso, camundongos com uma ablação do relógio central localizado dentro do núcleo supraquiasmático (SCN) exibem aumento do crescimento de xenoinxertos tumorais em comparação com camundongos com ritmo circadiano intacto(29). No geral, existe

uma ligação entre o câncer e a perturbação do ritmo circadiano, embora sua extensão e mecanismos moleculares não sejam totalmente elucidados(30)

Sabe-se que as causas para a formação da massa tumoral podem ser por determinante genético, no entanto, o estilo de vida parece ser o principal contribuinte para isso, sendo que fatores de risco comportamentais e nutricionais são responsáveis por cerca de um terço das mortes por câncer(31). Além disso, diversos trabalhos têm mostrado forte ligação entre o desenvolvimento do câncer e o ritmo circadiano(32–34). Um grande conjunto de evidências conectou os genes que controlam o ritmo circadiano a vários outros fatores reguladores importantes para a transformação celular. Dado o papel pleiotrópico do relógio circadiano na fisiologia, não surpreende que vários *hallmarks* do câncer estejam sob controle do relógio circadiano (Figura 2)(6).

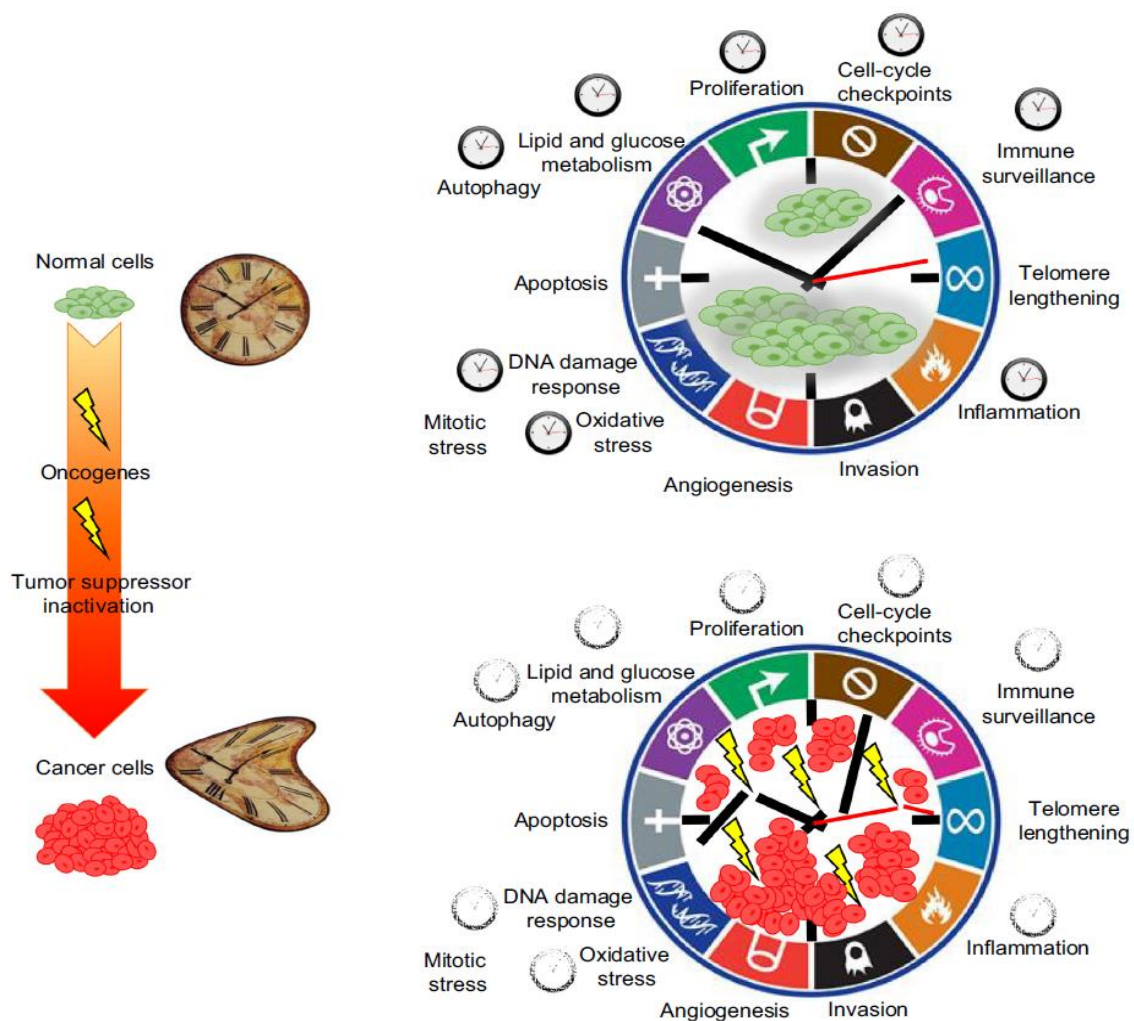


Figura 2. Durante o início do câncer, o ritmo circadiano é interrompido pelos oncogenes; isso sugere que o afrouxamento da função do relógio circadiano pode facilitar a instauração dos *hallmarks* do câncer e desempenhar um papel fundamental na tumorigênese(6).

Portanto, muitas proteínas do relógio circadiano também interagem fisicamente com proteínas que participam de vias relevantes para o desenvolvimento do câncer. Assim, a modulação da função ou da concentração das proteínas que controlam o relógio circadiano pode proteger ou promover o câncer. Primeiramente, as proteínas do relógio circadiano e suas proteínas interativas reconhecem o ambiente celular. Por exemplo, alteração no estado redox da célula pode afetar a afinidade do Clock/Bmal1 para o DNA(35). Conseqüentemente, alterações no estado redox, co-fatores e modificações pós-traducionais causadas por programas oncogênicos podem alterar a estabilidade, localização ou função das proteínas do relógio(6,36).

Além disso, há outros mecanismos que podem estar relacionados com os componentes do relógio circadiano envolvidos na iniciação ou progressão do câncer. Por exemplo, os componentes do relógio circadiano regulam direta ou indiretamente a expressão de centenas ou milhares de genes em diferentes tipos de células, o que leva a ritmos diários em muitos processos celulares, incluindo metabolismo de nutrientes(36) regulação redox(37), autofagia(38,39), reparo de danos ao DNA(33) e secreção celular(40,41). O ritmo diário desses processos celulares é parte integrante de sua homeostase. A interrupção do ritmo circadiano interrompe esses processos celulares e cria um ambiente celular propício à tumorigênese (isto é, reprogramação metabólica, desequilíbrio redox, inflamação crônica, etc.)(6).

O relógio circadiano também pode regular a expressão de diversos fatores secretados, que exercem funções parácrina ou endócrina. Esses fatores secretados incluem citocinas, hormônios e neurotransmissores, que por sua vez, podem sinalizar através de seus receptores cognatos e vias de sinalização *downstream* para afetar a função do relógio, arrastando ou sincronizando os relógios em diferentes tecidos. Esses fatores endócrinos podem ser biomarcadores da função circadiana em diferentes tecidos. No entanto, alguns tumores podem produzir quantidades excessivas desses hormônios ou citocinas relevantes para o relógio circadiano, o que também pode atrapalhar os relógios circadianos em órgãos distantes(6)

Estudos com seres humanos apontam alterações no ritmo circadiano e aumento da susceptibilidade para o desenvolvimento de câncer e mau prognóstico. Por exemplo, a expressão de todos os três genes *Per* estão desregulados em células de câncer de mama(42). Expressão *Per1* é regulada negativamente na maioria dos pacientes, possivelmente devido à metilação do seu promotor. É importante ressaltar que diversos estudos utilizando modelos animais mostraram relações entre alguns

genes controladores do relógio e tumorigênese(42–46). Especificamente, Per1 e Per2 parecem funcionar como supressores do tumor em camundongos(43). Ausência de Per2 leva ao desenvolvimento de linfomas malignos(44), enquanto que a sua expressão em linhagem de células cancerígenas resulta na inibição do crescimento celular, parada do ciclo celular, apoptose e perda da capacidade clonogênica(44). É interessante notar que os níveis de mRNA de Per2 são regulados negativamente em várias linhagens celulares de linfoma humano e em células tumorais de pacientes com leucemia mieloide aguda(44). A superexpressão de Per1 também pode suprimir o crescimento de linhagem celular de câncer humano(43). Não obstante, os níveis de mRNA de Per1 são regulados negativamente em câncer de pulmão em comparação com os tecidos normais correspondentes(43). Estes resultados apontam diretamente para uma ligação entre desordem do ritmo circadiano e câncer(45,46).

As alterações na expressão gênica circadiana são características compartilhadas de diferentes tipos de tumores. Tais alterações na expressão do gene do relógio nos tumores podem ter relevância funcional. Alguns estudos encontraram alterações na expressão de Rev-Erb e Cry em amostras de tumor que influenciam a sobrevivência de pacientes com glioblastoma, câncer colorretal e gástrico(47–50). Por exemplo, um estudo mostra que a maior expressão de Cry1 correlacionou-se positivamente com o fenótipo agressivo do câncer colorretal, prevendo resultados ruins para os pacientes, além disso, esse estudo mostra que a superexpressão de Cry1 em linhagem de células de câncer colorretal promoveu a proliferação e migração celular(50). Já a expressão de Rev-Erb α estava diminuída em tecidos de câncer gástrico humano e o tempo de sobrevivência dos pacientes foram significativamente associado à expressão do Rev-Erb α , sugerindo que o Rev-Erb α pode ser um fator de prognóstico no câncer gástrico(49).

A interrupção da expressão gênica circadiana pode ser causada não apenas por eventos genéticos. Por exemplo, a acidificação do microambiente do tumor leva a alterações do relógio circadiano(51), e a autofagia, que é altamente regulada em vários tipos de tumor, pode desencadear a degradação do Cry1(38). Em resumo, as análises genéticas e genômicas dos tumores indicaram que as mudanças na expressão dos genes do relógio são mais difundidas do que as mutações nos genes do relógio. Isso levou à hipótese de que programas oncogênicos podem interromper a regulação circadiana, o que, por sua vez, alimenta ainda mais o crescimento do tumor(6).

Os processos oncogênicos podem suprimir o equilíbrio homeostático imposto pelo relógio circadiano para facilitar a instauração dos *hallmarks* do câncer. Em contrapartida, outras linhas de evidência mostram que a disfunção do ritmo circadiano afeta a tumorigênese e que os genes do relógio regulam várias características do câncer. A manipulação farmacológica dos componentes do relógio circadiano pode revelar novas oportunidades para o tratamento do câncer, sendo essa estratégia denominada de cronoterapia do câncer, sendo o tratamento em horários específicos, acompanhando o ritmo circadiano, e buscando otimizar os efeitos antitumorais e diminuir a toxicidade do tratamento(47). Entretanto uma tentativa de manipulação não farmacológica dos componentes do relógio circadiano também pode ser uma estratégia para prevenir ou mesmo atenuar o desenvolvimento do câncer.

2.3 Exercício Físico e Ritmo Circadiano

Os humanos são seres que teoricamente deveriam ser ativos durante o dia e descansar durante a noite(28). Estas oscilações diárias comportamentais e fisiológicas são acionadas por um relógio circadiano endógeno. Este relógio circadiano endógeno muitas vezes pode sofrer influências externas(52), levando a uma interrupção frequente da homeostase circadiana, proporcionando aumento no risco de várias doenças, incluindo câncer(28). Alguns ciclos ambientais ajustam o oscilador que gera o ritmo circadiano, levando-o a oscilar com o mesmo período do ciclo. Esse processo é conhecido como arrastamento e o ciclo ambiental que arrasta o relógio é chamado de Zeitgeber (Zeitgebers – do alemão: Zeit=tempo, Geber=doador). Esses fatores externos servem ainda como indicadores de tempo, e podemos considerar vários Zeitgebers, sendo a luz o mais importante, que reinicia diariamente o relógio central. Na ausência dos Zeitgebers, os ritmos circadianos estão em curso livre e têm um período com duração diferente de 24 horas(53).

O exercício físico é um robusto Zeitgeber nos músculos esqueléticos, podendo redefinir o relógio circadiano molecular(54). O relógio circadiano tem sido bem documentado no músculo esquelético. McCarthy et al. 2007 foram os primeiros a verificar perfis da expressão rítmica de genes no músculo esquelético, uma abordagem útil para medir genes circadianos, e concluíram que mais de 200 genes exibiram um padrão de expressão rítmica(55). Estes genes foram observados para

abranger uma ampla variedade de processos fisiológicos, incluindo a transcrição, a sinalização celular e o metabolismo de proteínas(55).

Estudos também sugerem que o exercício físico pode alterar o ritmo circadiano, comportamentos e expressão dos clock genes(20) e, além disso, o exercício físico afeta todos os tecidos e sistemas do corpo humano, interagindo em um sistema de modulação psiconeuroimunoendócrino. As alterações no equilíbrio desse sistema, observadas em doenças crônicas, tais como o câncer, promovem perturbação do ritmo circadiano(56).

2.4 Exercício Físico e Câncer

Antigamente, era recomendado aos pacientes após o diagnóstico de câncer o repouso e que atividades extenuantes fossem evitadas, porém nas duas últimas décadas esse dogma foi mudando drasticamente, à medida que estudos de intervenção com exercícios e atividades físicas ganharam ampla aceitação, popularidade, e principalmente efeitos benéficos a saúde(57).

Embora as recomendações sobre atividade física para pacientes com câncer tenham começado a mudar nos últimos anos, a noção de que o exercício voluntário poderia inibir o crescimento de tumores em modelos experimentais de roedores foi demonstrado na década de 1940(57,58). Após esse estudo, o foco na relevância do comportamento do exercício físico estava exclusivamente ligado à prevenção do câncer, e os estudos que examinavam a aplicação do exercício físico em populações com diagnóstico de câncer começou a aparecer no final da década de 80, no qual pacientes com câncer de mama foram submetidos ao treinamento físico como estratégia de ajudar no tratamento quimioterápico(59,60).

Outro fator importante demonstrado nesses últimos anos é que o nível de atividade física está relacionado com a redução do risco de pelo menos 13 tipos diferentes de câncer(61), além de fornecer evidências de que o exercício físico está diretamente relacionado com a redução da recidiva para o câncer de próstata, cólon e mama(62–64).

Para auxiliar no tratamento do câncer, frequentemente são prescritos para pacientes medicamentos para ajudar a minimizar os efeitos secundários da quimioterapia e tratamento relacionados ao próprio câncer, mas a terapia com drogas é vista como solução de curto prazo que resolve apenas temporariamente efeitos

secundários debilitantes(65). Alguns dos sintomas físicos associados ao tratamento são a fadiga, a anemia, a perda de massa muscular e a diminuição do equilíbrio e coordenação(66). Estes sintomas físicos podem trazer diminuição da energia e desempenho físico, reduzindo assim, o estado de humor geral e qualidade de vida(66,67). O aumento dos níveis de atividade física pode melhorar a capacidade física e aspectos psicossociais em pacientes sobreviventes de câncer(68,69). Alguns estudos sugerem que exercício físico de baixa à moderada intensidade é uma opção viável e segura para mediar os efeitos do tratamento médico(65,66,70). Treinamento aeróbio tem a capacidade de atenuar a perda no desempenho físico tipicamente associado com o tratamento do câncer(71,72). Para tanto, um programa regular de exercícios pode ser uma intervenção útil e de baixo custo como estratégia para melhorar a qualidade de vida de pacientes e sobreviventes do câncer(56).

O exercício físico tem um papel importante no processo de reabilitação em pacientes com câncer(73). Uma revisão de dados quantitativos de 82 ensaios controlados com intervenções de atividade física para sobreviventes de câncer mostrou que o exercício físico foi bem tolerado durante e após o tratamento (sem eventos adversos)(74). Esses fatos reforçam que o treinamento físico é seguro durante e após o tratamento do câncer e pode resultar em um aumento da capacidade funcional, qualidade de vida e redução da fadiga relacionada ao câncer em vários grupos de sobreviventes do câncer(75,76). Não obstante, Lira et al. (2008) mostraram que o treinamento aeróbio promove efeito protetor, reduzindo em até 10 vezes o tamanho do tumor(77).

A atividade física regular de intensidade moderada (por exemplo, caminhada rápida) diminui o risco de muitos cânceres, bem como de mortalidade por câncer. Em estudos com animais, o exercício regular inibe o início e a progressão do tumor em ampla gama de modelos de tumor e localizações anatômicas. Uma abundância de evidências apoia uma associação entre atividade física e diminuição do risco de câncer, assim como a mortalidade por câncer(13,78,79). Claramente esta é uma questão importante dada à crescente incidência mundial de câncer e sedentarismo(13). É, portanto, importante elucidar os mecanismos biológicos que explicam os potenciais efeitos antitumorigênicos do exercício físico que podem levar à prevenção do câncer ou pelo menos a uma taxa atenuada de crescimento tumoral.

Sabe-se que o tumor pode derivar de diferentes tipos de células primárias, mas para que ele seja classificado como tal, alguns marcadores (*hallmarks of cancer*)

devem apresentar características específicas, dentre elas: alta e contínua atividade proliferativa, ativação do processo de invasão e/ou metástases, resistência à morte celular, evasão de processos que regulam o crescimento, angiogênese, alteração do metabolismo celular, inflamação, instabilidade genômica e escape do sistema imunitário(34).

Acredita-se que o exercício pode agir em alguns marcadores do câncer, por exemplo, o exercício físico pode ajudar a prevenir o câncer em modelos animais, induzindo redução na concentração do IGF-1(80,81), sendo esse um fator que desencadeia a proliferação celular(82,83). Além disso, o exercício diminuiu os níveis séricos de IGF-1 em homens saudáveis com 60 anos de idade(84). O exercício pode ser um supressor do crescimento tumoral, por aumentar a ativação da p53, resultando em expressão aumentada da p21, IGFBP-3 e PTEN, que por sua vez pode induzir regulação negativa da via de IGF-1 e, assim, contribuir para a prevenção do câncer de pele(85,86). O exercício também pode reduzir a proliferação de células tumorais por meio da estimulação da fosforilação de AMPK e seu substrato raptor, o que reduz a atividade da mTOR(87).

Resistência a morte celular é um fator comum na iniciação e progressão tumoral, o exercício físico mostrou ter um efeito na morte celular e supressão do crescimento do tumor de pâncreas e próstata em um modelo de xenoinxerto de camundongo(88).

O exercício também está relacionado em melhora da perfusão/vascularização intratumoral em câncer de mama(89,90) e de próstata(91,92), promovendo ativação do HIF-1 α pelo exercício e subsequentemente uma regulação positiva de VEGF, associando assim a uma vascularização produtiva do tumor com mudança em direção a redução do processo de metástase em um modelo ortotópico de câncer de próstata(91), esses achados levaram a hipóteses de que o exercício resulta em perfusão tumoral aumentada e assim pode melhorar a administração de drogas e células imunológicas para dentro do tumor(92).

As células inflamatórias dentro do microambiente tumoral têm efeito de promoção ao desenvolvimento do tumor(34), o exercício físico já é bem conhecido pelos seus efeitos antiinflamatórios(93–95). Além do mais, o músculo esquelético é bem conhecido por ser um órgão endócrino capaz de liberar moléculas (principalmente proteínas e pequenos peptídeos, mas também ácidos nucleicos, lipídios e metabólitos) na corrente sanguínea (seja em livre circulação ou dentro de

exossomos e/ou microvesículas) conhecidas como miocinas, atuando sistemicamente e com efeitos antiinflamatórios(96). Algumas miocinas também podem induzir apoptose em tumores específicos, através das miocinas oncostatina M no câncer de mama(97) e osteonectina (proteína secretada ácida e rica em cisteína) no câncer de cólon(98).

Ademais, outra miocina bem descrita e com efeitos imunomodulatórios é a IL-6(99), que por sua vez também apresenta efeitos antitumorigênicos(78). Isso ocorre através da mobilização induzida pelo exercício de células NK e a subsequente infiltração dessas células em tumores mediadas pelo efeito acoplado de liberação na corrente sanguínea da IL-6 dos músculos esqueléticos e a atividade da adrenalina, liberado das glândulas supra-renais(78). Entretanto, esse efeito da IL-6 parece ser exclusivo do exercício físico, pois uma vez que a injeção da IL-6 não conseguiu simular a infiltração de células NK ou a redução do crescimento tumoral e a IL-6 derivada do tumor promove efeitos a favor do crescimento tumoral(100).

Embora os mecanismos pelo qual o exercício físico possa controlar os marcadores do câncer ainda não estão bem elucidados, nota-se que o estilo de vida saudável e a prática regular de exercício físico têm potenciais efeitos antitumorigênicos.

2.5 Exercício Físico, Ritmo Circadiano e Câncer

Como descrito, o exercício físico praticado regularmente é um robusto Zeitgeber do relógio circadiano nos músculos esqueléticos(54) e pode ser uma estratégia não farmacológica para prevenir ou atenuar o desenvolvimento do câncer (94), porém pouco se sabe sobre a relação dos mecanismos envolvidos na prática do exercício físico sobre o câncer e o relógio circadiano.

Alterações no ritmo circadiano estão relacionadas com diversas morbidades, entre elas, alterações no padrão de sono, causando piora na qualidade do sono, distúrbios psiquiátricos, como depressão e ansiedade, aterosclerose, hipertensão, câncer, entre outros(42,101–104).

Estudos em humanos e roedores demonstraram que variáveis como força do músculo esquelético e a capacidade oxidativa apresentam diferenças significativas ao longo do dia(105–108). Por exemplo, estudos têm demonstrado consistentemente um aumento da força no final da tarde em relação à manhã (105), enquanto a capacidade

oxidativa atinge o pico no final da noite(108). Além disso, as concentrações basais de hormônios e metabólitos sistêmicos oscilam ao longo de um período de 24 horas, embora o impacto dessas oscilações no exercício não seja claro(106–109), portanto, o horário da prática do exercício físico pode ser um fator fundamental em uma terapia anticâncer.

Além disso, o exercício físico realizado de maneira voluntária pode afetar a rapidez com que um animal sincroniza a fase de um novo ciclo claro/escuro(110,111), promovendo assim mudanças no relógio circadiano no músculo esquelético(20), e o treinamento aeróbio foi capaz de melhorar o metabolismo e o desempenho através dos mecanismos do relógio circadiano que tinham sido afetados em camundongos mutantes para Clock(112).

Também nota-se a estreita relação dos genes que controlam o ritmo circadiano a vários outros fatores reguladores importantes para a transformação celular, conectando evidências de que vários *hallmarks* do câncer estejam sob controle do relógio circadiano(6), e que o exercício físico pode interferir nesses *hallmarks* atenuando o crescimento tumoral(13).

Posto isso, o nosso objetivo foi avaliar se os mecanismos envolvidos na inibição do crescimento tumoral pelo treinamento físico podem estar correlacionados com o papel cronomarcador do exercício físico.

8 CONCLUSÃO

Neste trabalho, o exercício físico em horários alternados foi mais eficiente em reduzir a massa tumoral, porém o exercício físico praticado no mesmo horário do dia promoveu maior efeito protetor para o músculo esquelético, assim como preveniu a perda de massa muscular. Além disso, o exercício em horários fixos apresentou efeito cronomodulador, aumentando a expressão gênica de AMPK e reduzindo a expressão de Atroquina-1 no período claro quando comparado ao período escuro

Ainda no músculo gastrocnêmio, o exercício físico foi responsável pela oscilação dos *clock genes* dentre os horários analisados, elevando a expressão de Clock, Per1, Per2 e Per3, principalmente no período claro. Já no período escuro, o grupo que treinou no mesmo horário do dia apresentou aumento das citocinas anti-inflamatórias. No tecido tumoral, este efeito anti-inflamatório foi observado no grupo que treinou em horários alternados e durante o período claro. De modo geral, o exercício físico se mostrou um grande modulador do relógio circadiano no músculo esquelético, além de promover efeitos protetores ao músculo e mitigar o crescimento tumoral.

REFERÊNCIAS

1. Wright KPJ, McHill AW, Birks BR, Griffin BR, Rusterholz T, Chinoy ED. Entrainment of the human circadian clock to the natural light-dark cycle. *Curr Biol*. 2013 Aug;23(16):1554–8.
2. Walch OJ, Cochran A, Forger DB. A global quantification of “normal” sleep schedules using smartphone data. *Sci Adv*. 2016 May;2(5):e1501705.
3. Chang A-M, Aeschbach D, Duffy JF, Czeisler CA. Evening use of light-emitting eReaders negatively affects sleep, circadian timing, and next-morning alertness. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015 Jan;112(4):1232–7.
4. Ostrin LA. Ocular and systemic melatonin and the influence of light exposure. *Clin Exp Optom*. 2019 Mar;102(2):99–108.
5. Gupta NJ. Lifestyle and Circadian Health: Where the Challenges Lie? *Nutr Metab Insights*. 2019;12:1178638819869024.
6. Sulli G, Lam MTY, Panda S. Interplay between Circadian Clock and Cancer: New Frontiers for Cancer Treatment. *Trends in cancer*. 2019 Aug;5(8):475–94.
7. Salamanca-Fernández E, Rodríguez-Barranco M, Guevara M, Ardanaz E, Olry de Labry Lima A, Sánchez MJ. Night-shift work and breast and prostate cancer risk: updating the evidence from epidemiological studies. *An Sist Sanit Navar*. 2018 Aug;41(2):211–26.
8. Schernhammer ES, Laden F, Speizer FE, Willett WC, Hunter DJ, Kawachi I, et al. Rotating night shifts and risk of breast cancer in women participating in the nurses' health study. *J Natl Cancer Inst*. 2001/10/18. 2001;93(20):1563–8.
9. Gan Y, Li L, Zhang L, Yan S, Gao C, Hu S, et al. Association between shift work and risk of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Carcinogenesis*. 2018 Feb;39(2):87–97.
10. de Assis LVM, Moraes MN, Magalhães-Marques KK, Kinker GS, da Silveira Cruz-Machado S, Castrucci AM de L. Non-Metastatic Cutaneous Melanoma Induces Chronodisruption in Central and Peripheral Circadian Clocks. *Int J Mol Sci*. 2018 Apr;19(4).
11. Pot GK. Sleep and dietary habits in the urban environment: the role of chrononutrition. *Proc Nutr Soc*. 2018 Aug;77(3):189–98.
12. Choi Y, Cho J, No M-H, Heo J-W, Cho E-J, Chang E, et al. Re-Setting the Circadian Clock Using Exercise against Sarcopenia. *Int J Mol Sci*. 2020 Apr;21(9).
13. Ruiz-Casado A, Martín-Ruiz A, Pérez LM, Provencio M, Fiuza-Luces C, Lucia A. Exercise and the Hallmarks of Cancer. *Trends in cancer*. 2017 Jun;3(6):423–41.
14. Yuan L, Li Y-R, Xu X-D. Chronobiology --2017 Nobel Prize in Physiology or Medicine. *Yi chuan = Hered*. 2018 Jan;40(1):1–11.
15. Longo VD, Panda S. Fasting, Circadian Rhythms, and Time-Restricted Feeding

- in Healthy Lifespan. *Cell Metab.* 2016 Jun;23(6):1048–59.
16. Damiola F, Le Minh N, Preitner N, Kornmann B, Fleury-Olela F, Schibler U. Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. *Genes Dev.* 2000/12/15. 2000;14(23):2950–61.
 17. Sahar S, Sassone-Corsi P. Metabolism and cancer: the circadian clock connection. *Nat Rev Cancer.* 2009/11/26. 2009;9(12):886–96.
 18. Stokkan KA, Yamazaki S, Tei H, Sakaki Y, Menaker M. Entrainment of the circadian clock in the liver by feeding. *Science (80-).* 2001/02/13. 2001;291(5503):490–3.
 19. Schroeder AM, Truong D, Loh DH, Jordan MC, Roos KP, Colwell CS. Voluntary scheduled exercise alters diurnal rhythms of behaviour, physiology and gene expression in wild-type and vasoactive intestinal peptide-deficient mice. *J Physiol.* 2012/09/19. 2012;590(Pt 23):6213–26.
 20. Wolff G, Esser KA. Scheduled exercise phase shifts the circadian clock in skeletal muscle. *Med Sci Sport Exerc.* 2012/03/31. 2012;44(9):1663–70.
 21. Yamanaka Y, Honma S, Honma K. Scheduled exposures to a novel environment with a running-wheel differentially accelerate re-entrainment of mice peripheral clocks to new light-dark cycles. *Genes Cells.* 2008/04/24. 2008;13(5):497–507.
 22. Hood S, Amir S. The aging clock: circadian rhythms and later life. *J Clin Invest.* 2017 Feb;127(2):437–46.
 23. Preitner N, Damiola F, Lopez-Molina L, Zakany J, Duboule D, Albrecht U, et al. The orphan nuclear receptor REV-ERB α controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator. *Cell.* 2002/08/02. 2002;110(2):251–60.
 24. Triqueneaux G, Thenot S, Kakizawa T, Antoch MP, Safi R, Takahashi JS, et al. The orphan receptor Rev-erb α gene is a target of the circadian clock pacemaker. *J Mol Endocrinol.* 2004/12/14. 2004;33(3):585–608.
 25. Sato TK, Panda S, Miraglia LJ, Reyes TM, Rudic RD, McNamara P, et al. A functional genomics strategy reveals Rora as a component of the mammalian circadian clock. *Neuron.* 2004/08/18. 2004;43(4):527–37.
 26. Akashi M, Takumi T. The orphan nuclear receptor ROR α regulates circadian transcription of the mammalian core-clock Bmal1. *Nat Struct Mol Biol.* 2005/04/12. 2005;12(5):441–8.
 27. Guillaumond F, Dardente H, Giguere V, Cermakian N. Differential control of Bmal1 circadian transcription by REV-ERB and ROR nuclear receptors. *J Biol Rhythm.* 2005/11/04. 2005;20(5):391–403.
 28. Kettner NM, Katchy CA, Fu L. Circadian gene variants in cancer. *Ann Med.* 2014/06/06. 2014;46(4):208–20.
 29. Filipinski E, King VM, Li X, Granda TG, Mormont M-C, Liu X, et al. Host circadian clock as a control point in tumor progression. *J Natl Cancer Inst.* 2002

- May;94(9):690–7.
30. Masri S, Kinouchi K, Sassone-Corsi P. Circadian clocks, epigenetics, and cancer. *Curr Opin Oncol*. 2015 Jan;27(1):50–6.
 31. Kushi LH, Doyle C, McCullough M, Rock CL, Demark-Wahnefried W, Bandera E V, et al. American Cancer Society Guidelines on nutrition and physical activity for cancer prevention: reducing the risk of cancer with healthy food choices and physical activity. *CA Cancer J Clin*. 2012/01/13. 2012;62(1):30–67.
 32. Papagiannakopoulos T, Bauer MR, Davidson SM, Heimann M, Subbaraj L, Bhutkar A, et al. Circadian Rhythm Disruption Promotes Lung Tumorigenesis. *Cell Metab*. 2016/08/02. 2016;24(2):324–31.
 33. Lee Y, Lahens NF, Zhang S, Bedont J, Field JM, Sehgal A. G1/S cell cycle regulators mediate effects of circadian dysregulation on tumor growth and provide targets for timed anticancer treatment. *PLoS Biol*. 2019 Apr;17(4):e3000228.
 34. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011/03/08. 2011;144(5):646–74.
 35. Rutter J, Reick M, Wu LC, McKnight SL. Regulation of clock and NPAS2 DNA binding by the redox state of NAD cofactors. *Science*. 2001 Jul;293(5529):510–4.
 36. Reinke H, Asher G. Crosstalk between metabolism and circadian clocks. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2019 Apr;20(4):227–41.
 37. Wilking M, Ndiaye M, Mukhtar H, Ahmad N. Circadian rhythm connections to oxidative stress: implications for human health. *Antioxid Redox Signal*. 2013/04/24. 2013 Jul 10;19(2):192–208.
 38. Toledo M, Batista-Gonzalez A, Merheb E, Aoun ML, Tarabra E, Feng D, et al. Autophagy Regulates the Liver Clock and Glucose Metabolism by Degrading CRY1. *Cell Metab*. 2018 Aug;28(2):268-281.e4.
 39. Karsli-Uzunbas G, Guo JY, Price S, Teng X, Laddha S V, Khor S, et al. Autophagy is required for glucose homeostasis and lung tumor maintenance. *Cancer Discov*. 2014 Aug;4(8):914–27.
 40. Shalapour S, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer: an eternal fight between good and evil. *J Clin Invest*. 2015/09/01. 2015 Sep;125(9):3347–55.
 41. Scheiermann C, Gibbs J, Ince L, Loudon A. Clocking in to immunity. *Nat Rev Immunol*. 2018 Jul;18(7):423–37.
 42. Chen ST, Choo KB, Hou MF, Yeh KT, Kuo SJ, Chang JG. Deregulated expression of the PER1, PER2 and PER3 genes in breast cancers. *Carcinogenesis*. 2005/03/26. 2005;26(7):1241–6.
 43. Gery S, Komatsu N, Baldjyan L, Yu A, Koo D, Koeffler HP. The circadian gene *per1* plays an important role in cell growth and DNA damage control in human cancer cells. *Mol Cell*. 2006/05/09. 2006;22(3):375–82.
 44. Gery S, Gombart AF, Yi WS, Koeffler C, Hofmann WK, Koeffler HP. Transcription profiling of C/EBP targets identifies *Per2* as a gene implicated in

- myeloid leukemia. *Blood*. 2005/06/30. 2005;106(8):2827–36.
45. Sahar S, Sassone-Corsi P. Circadian clock and breast cancer: a molecular link. *Cell Cycle*. 2007/05/31. 2007;6(11):1329–31.
 46. Kelleher FC, Rao A, Maguire A. Circadian molecular clocks and cancer. *Cancer Lett*. 2013/10/09. 2014;342(1):9–18.
 47. Ye Y, Xiang Y, Ozguc FM, Kim Y, Liu C-J, Park PK, et al. The Genomic Landscape and Pharmacogenomic Interactions of Clock Genes in Cancer Chronotherapy. *Cell Syst*. 2018 Mar;6(3):314-328.e2.
 48. Sulli G, Rommel A, Wang X, Kolar MJ, Puca F, Saghatelian A, et al. Pharmacological activation of REV-ERBs is lethal in cancer and oncogene-induced senescence. *Nature*. 2018 Jan;553(7688):351–5.
 49. Wang X, Wang N, Wei X, Yu H, Wang Z. REV-ERB α reduction is associated with clinicopathological features and prognosis in human gastric cancer. *Oncol Lett*. 2018 Aug;16(2):1499–506.
 50. Yu H, Meng X, Wu J, Pan C, Ying X, Zhou Y, et al. Cryptochrome 1 overexpression correlates with tumor progression and poor prognosis in patients with colorectal cancer. *PLoS One*. 2013;8(4):e61679.
 51. Walton ZE, Patel CH, Brooks RC, Yu Y, Ibrahim-Hashim A, Riddle M, et al. Acid Suspends the Circadian Clock in Hypoxia through Inhibition of mTOR. *Cell*. 2018 Jun;174(1):72-87.e32.
 52. Finger A-M, Kramer A. Mammalian circadian systems: Organization and modern life challenges. *Acta Physiol (Oxf)*. 2020 Aug;e13548.
 53. Aschoff J. Exogenous and endogenous components in circadian rhythms. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 1960/01/01. 1960;25:11–28.
 54. Gabriel BM, Zierath JR. Circadian rhythms and exercise - re-setting the clock in metabolic disease. *Nat Rev Endocrinol*. 2019 Apr;15(4):197–206.
 55. McCarthy JJ, Andrews JL, McDearmon EL, Campbell KS, Barber BK, Miller BH, et al. Identification of the circadian transcriptome in adult mouse skeletal muscle. *Physiol Genomics*. 2007/06/07. 2007;31(1):86–95.
 56. Costa Rosa LF. Exercise as a Time-conditioning Effector in Chronic Disease: a Complementary Treatment Strategy. *Evid Based Complement Altern Med*. 2004/07/17. 2004;1(1):63–70.
 57. Christensen JF, Simonsen C, Hojman P. Exercise Training in Cancer Control and Treatment. *Compr Physiol*. 2018 Dec;9(1):165–205.
 58. Rusch HP, Kline BE. The effect of exercise on the growth of a mouse tumor. *Cancer Res*. 1944;4(2):116–8.
 59. MacVicar MG, Winningham ML, Nickel JL. Effects of aerobic interval training on cancer patients' functional capacity. *Nurs Res*. 1989;38(6):348–51.
 60. Winningham ML, MacVicar MG, Bondoc M, Anderson JI, Minton JP. Effect of aerobic exercise on body weight and composition in patients with breast cancer on adjuvant chemotherapy. *Oncol Nurs Forum*. 1989;16(5):683–9.

61. Moore SC, Lee I-M, Weiderpass E, Campbell PT, Sampson JN, Kitahara CM, et al. Association of Leisure-Time Physical Activity With Risk of 26 Types of Cancer in 1.44 Million Adults. *JAMA Intern Med.* 2016 Jun;176(6):816–25.
62. Kenfield SA, Stampfer MJ, Giovannucci E, Chan JM. Physical activity and survival after prostate cancer diagnosis in the health professionals follow-up study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2011 Feb;29(6):726–32.
63. Meyerhardt JA, Giovannucci EL, Holmes MD, Chan AT, Chan JA, Colditz GA, et al. Physical activity and survival after colorectal cancer diagnosis. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2006 Aug;24(22):3527–34.
64. Holmes MD, Chen WY, Feskanich D, Kroenke CH, Colditz GA. Physical activity and survival after breast cancer diagnosis. *JAMA.* 2005 May;293(20):2479–86.
65. Battaglini CL, Hackney AC, Garcia R, Groff D, Evans E, Shea T. The effects of an exercise program in leukemia patients. *Integr Cancer Ther.* 2009/08/15. 2009;8(2):130–8.
66. Chang PH, Lai YH, Shun SC, Lin LY, Chen ML, Yang Y, et al. Effects of a walking intervention on fatigue-related experiences of hospitalized acute myelogenous leukemia patients undergoing chemotherapy: a randomized controlled trial. *J Pain Symptom Manag.* 2008/02/19. 2008;35(5):524–34.
67. Myers J, Prakash M, Froelicher V, Do D, Partington S, Atwood JE. Exercise capacity and mortality among men referred for exercise testing. *N Engl J Med.* 2002/03/15. 2002;346(11):793–801.
68. Bellizzi KM, Rowland JH, Arora NK, Hamilton AS, Miller MF, Aziz NM. Physical activity and quality of life in adult survivors of non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol.* 2009/01/14. 2009;27(6):960–6.
69. Schwartz AL, de Heer HD, Bea JW. Initiating Exercise Interventions to Promote Wellness in Cancer Patients and Survivors. *Oncology (Williston Park).* 2017 Oct;31(10):711–7.
70. Doyle C, Kushi LH, Byers T, Courneya KS, Demark-Wahnefried W, Grant B, et al. Nutrition and physical activity during and after cancer treatment: an American Cancer Society guide for informed choices. *CA Cancer J Clin.* 2006/12/01. 2006;56(6):323–53.
71. Dimeo F, Schwartz S, Fietz T, Wanjura T, Boning D, Thiel E. Effects of endurance training on the physical performance of patients with hematological malignancies during chemotherapy. *Support Care Cancer.* 2003/08/28. 2003;11(10):623–8.
72. Liu RD, Chinapaw MJ, Huijgens PC, van Mechelen W. Physical exercise interventions in haematological cancer patients, feasible to conduct but effectiveness to be established: a systematic literature review. *Cancer Treat Rev.* 2008/11/14. 2009;35(2):185–92.
73. Burnham TR, Wilcox A. Effects of exercise on physiological and psychological variables in cancer survivors. *Med Sci Sport Exerc.* 2002/12/10. 2002;34(12):1863–7.
74. Speck RM, Courneya KS, Masse LC, Duval S, Schmitz KH. An update of

- controlled physical activity trials in cancer survivors: a systematic review and meta-analysis. *J Cancer Surviv.* 2010/01/07. 2010;4(2):87–100.
75. Schmitz KH, Courneya KS, Matthews C, Demark-Wahnefried W, Galvao DA, Pinto BM, et al. American College of Sports Medicine roundtable on exercise guidelines for cancer survivors. *Med Sci Sport Exerc.* 2010/06/19. 2010;42(7):1409–26.
 76. McMillan EM, Newhouse IJ. Exercise is an effective treatment modality for reducing cancer-related fatigue and improving physical capacity in cancer patients and survivors: a meta-analysis. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2011/11/10. 2011;36(6):892–903.
 77. Lira FS, Tavares FL, Yamashita AS, Koyama CH, Alves MJ, Caperuto EC, et al. Effect of endurance training upon lipid metabolism in the liver of cachectic tumour-bearing rats. *Cell Biochem Funct.* 2008/07/19. 2008;26(6):701–8.
 78. Pedersen L, Idorn M, Olofsson GH, Lauenborg B, Nookaew I, Hansen RH, et al. Voluntary Running Suppresses Tumor Growth through Epinephrine- and IL-6-Dependent NK Cell Mobilization and Redistribution. *Cell Metab.* 2016/02/21. 2016;23(3):554–62.
 79. Idorn M, Thor Straten P. Exercise and cancer: from “healthy” to “therapeutic”? *Cancer Immunol Immunother.* 2017/03/21. 2017 May;66(5):667–71.
 80. Xie L, Jiang Y, Ouyang P, Chen J, Doan H, Herndon B, et al. Effects of dietary calorie restriction or exercise on the PI3K and Ras signaling pathways in the skin of mice. *J Biol Chem.* 2007 Sep;282(38):28025–35.
 81. Zhu Z, Jiang W, Zacher JH, Neil ES, McGinley JN, Thompson HJ. Effects of energy restriction and wheel running on mammary carcinogenesis and host systemic factors in a rat model. *Cancer Prev Res (Phila).* 2012 Mar;5(3):414–22.
 82. Kalaany NY, Sabatini DM. Tumours with PI3K activation are resistant to dietary restriction. *Nature.* 2009 Apr;458(7239):725–31.
 83. Standard J, Jiang Y, Yu M, Su X, Zhao Z, Xu J, et al. Reduced signaling of PI3K-Akt and RAS-MAPK pathways is the key target for weight-loss-induced cancer prevention by dietary calorie restriction and/or physical activity. *J Nutr Biochem.* 2014 Dec;25(12):1317–23.
 84. Leung P-S, Aronson WJ, Ngo TH, Golding LA, Barnard RJ. Exercise alters the IGF axis in vivo and increases p53 protein in prostate tumor cells in vitro. *J Appl Physiol.* 2004 Feb;96(2):450–4.
 85. Jiang W, Zhu Z, Thompson HJ. Effects of physical activity and restricted energy intake on chemically induced mammary carcinogenesis. *Cancer Prev Res (Phila).* 2009 Apr;2(4):338–44.
 86. Zhu Z, Jiang W, Sells JL, Neil ES, McGinley JN, Thompson HJ. Effect of nonmotorized wheel running on mammary carcinogenesis: circulating biomarkers, cellular processes, and molecular mechanisms in rats. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008/08/19. 2008;17(8):1920–9.
 87. Piguet A-C, Saran U, Simillion C, Keller I, Terracciano L, Reeves HL, et al.

- Regular exercise decreases liver tumors development in hepatocyte-specific PTEN-deficient mice independently of steatosis. *J Hepatol.* 2015 Jun;62(6):1296–303.
88. Zheng X, Cui X-X, Huang M-T, Liu Y, Shih WJ, Lin Y, et al. Inhibitory effect of voluntary running wheel exercise on the growth of human pancreatic Panc-1 and prostate PC-3 xenograft tumors in immunodeficient mice. *Oncol Rep.* 2008 Jun;19(6):1583–8.
 89. Betof AS, Lascola CD, Weitzel D, Landon C, Scarbrough PM, Devi GR, et al. Modulation of murine breast tumor vascularity, hypoxia and chemotherapeutic response by exercise. *J Natl Cancer Inst.* 2015 May;107(5).
 90. Jones LW, Viglianti BL, Tashjian JA, Kothadia SM, Keir ST, Freedland SJ, et al. Effect of aerobic exercise on tumor physiology in an animal model of human breast cancer. *J Appl Physiol.* 2010 Feb;108(2):343–8.
 91. Jones LW, Antonelli J, Masko EM, Broadwater G, Lascola CD, Fels D, et al. Exercise modulation of the host-tumor interaction in an orthotopic model of murine prostate cancer. *J Appl Physiol.* 2012 Jul;113(2):263–72.
 92. McCullough DJ, Stabley JN, Siemann DW, Behnke BJ. Modulation of blood flow, hypoxia, and vascular function in orthotopic prostate tumors during exercise. *J Natl Cancer Inst.* 2014 Apr;106(4):dju036.
 93. de Souza Teixeira AA, Lira FS, Rosa-Neto JC. Aging with rhythmicity. Is it possible? Physical exercise as a pacemaker. *Life Sci.* 2020 Sep;118453.
 94. Hojman P, Gehl J, Christensen JF, Pedersen BK. Molecular Mechanisms Linking Exercise to Cancer Prevention and Treatment. *Cell Metab.* 2018 Jan;27(1):10–21.
 95. Pedersen BK, Saltin B. Exercise as medicine - evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases. *Scand J Med Sci Sports.* 2015 Dec;25 Suppl 3:1–72.
 96. Fiuza-Luces C, Garatachea N, Berger NA, Lucia A. Exercise is the real polypill. *Physiology (Bethesda).* 2013 Sep;28(5):330–58.
 97. Hojman P, Dethlefsen C, Brandt C, Hansen J, Pedersen L, Pedersen BK. Exercise-induced muscle-derived cytokines inhibit mammary cancer cell growth. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2011/06/10. 2011;301(3):E504-10.
 98. Aoi W, Naito Y, Takagi T, Tanimura Y, Takanami Y, Kawai Y, et al. A novel myokine, secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC), suppresses colon tumorigenesis via regular exercise. *Gut.* 2013 Jun;62(6):882–9.
 99. Pedersen BK, Febbraio MA. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol Rev.* 2008/10/17. 2008;88(4):1379–406.
 100. Stone RL, Nick AM, McNeish IA, Balkwill F, Han HD, Bottsford-Miller J, et al. Paraneoplastic thrombocytosis in ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2012 Feb;366(7):610–8.
 101. Mansour HA, Monk TH, Nimgaonkar VL. Circadian genes and bipolar disorder. *Ann Med.* 2005/07/16. 2005;37(3):196–205.

102. Machado RM, Koike MK. Circadian rhythm, sleep pattern, and metabolic consequences: an overview on cardiovascular risk factors. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2014/11/13. 2014;18(1):47–52.
103. Wulff K, Gatti S, Wettstein JG, Foster RG. Sleep and circadian rhythm disruption in psychiatric and neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurosci.* 2010/07/16. 2010;11(8):589–99.
104. Coca A. Circadian rhythm and blood pressure control: physiological and pathophysiological factors. *J Hypertens Suppl.* 1994/07/01. 1994;12(5):S13-21.
105. Atkinson G, Reilly T. Circadian variation in sports performance. *Sports Med.* 1996 Apr;21(4):292–312.
106. de Goede P, Wefers J, Brombacher EC, Schrauwen P, Kalsbeek A. Circadian rhythms in mitochondrial respiration. *J Mol Endocrinol.* 2018 Apr;60(3):R115–30.
107. Wens I, Hansen D. Muscle Strength, But Not Muscle Oxidative Capacity, Varies Between the Morning and the Afternoon in Patients with Multiple Sclerosis: A Pilot Study. *Am J Phys Med Rehabil.* 2017 Nov;96(11):828–30.
108. van Moorsel D, Hansen J, Havekes B, Scheer FAJL, Jörgensen JA, Hoeks J, et al. Demonstration of a day-night rhythm in human skeletal muscle oxidative capacity. *Mol Metab.* 2016 Aug;5(8):635–45.
109. Machado FSM, Fóscolo DRC, Poletini MO, Coimbra CC. Influence of Time-of-Day on Maximal Exercise Capacity Is Related to Daily Thermal Balance but Not to Induced Neuronal Activity in Rats. *Front Physiol.* 2016;7:464.
110. Edgar DM, Dement WC. Regularly scheduled voluntary exercise synchronizes the mouse circadian clock. *Am J Physiol.* 1991/10/01. 1991;261(4 Pt 2):R928-33.
111. Marchant EG, Mistlberger RE. Entrainment and phase shifting of circadian rhythms in mice by forced treadmill running. *Physiol Behav.* 1996/08/01. 1996;60(2):657–63.
112. Pastore S, Hood DA. Endurance training ameliorates the metabolic and performance characteristics of circadian Clock mutant mice. *J Appl Physiol.* 2013/02/23. 2013;114(8):1076–84.
113. Bacurau RFP, Navarro F, Bassit RA, Meneguello MO, Santos RVT, Almeida ALR, et al. Does exercise training interfere with the effects of L-carnitine supplementation? *Nutrition.* 2003 Apr;19(4):337–41.
114. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnol (N Y).* 1992/04/01. 1992;10(4):413–7.
115. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods.* 2002/02/16. 2001;25(4):402–8.
116. McGinnis GR, Young ME. Circadian regulation of metabolic homeostasis: causes and consequences. *Nat Sci Sleep.* 2016/06/18. 2016;8:163–80.

117. Qian J, Scheer FA. Circadian System and Glucose Metabolism: Implications for Physiology and Disease. *Trends Endocrinol Metab.* 2016/04/16. 2016;27(5):282–93.
118. Jacobi D, Liu S, Burkewitz K, Kory N, Knudsen NH, Alexander RK, et al. Hepatic Bmal1 Regulates Rhythmic Mitochondrial Dynamics and Promotes Metabolic Fitness. *Cell Metab.* 2015/09/15. 2015;22(4):709–20.
119. Lee J, Kim MS, Li R, Liu VY, Fu L, Moore DD, et al. Loss of Bmal1 leads to uncoupling and impaired glucose-stimulated insulin secretion in beta-cells. *Islets.* 2011/11/03. 2011;3(6):381–8.
120. Dyar KA, Ciciliot S, Wright LE, Bienso RS, Tagliazucchi GM, Patel VR, et al. Muscle insulin sensitivity and glucose metabolism are controlled by the intrinsic muscle clock. *Mol Metab.* 2014/02/26. 2014;3(1):29–41.
121. Harfmann BD, Schroder EA, Kachman MT, Hodge BA, Zhang X, Esser KA. Muscle-specific loss of Bmal1 leads to disrupted tissue glucose metabolism and systemic glucose homeostasis. *Skelet Muscle.* 2016;6:12.
122. Wada T, Ichihashi Y, Suzuki E, Kosuge Y, Ishige K, Uchiyama T, et al. Deletion of Bmal1 Prevents Diet-Induced Ectopic Fat Accumulation by Controlling Oxidative Capacity in the Skeletal Muscle. *Int J Mol Sci.* 2018 Sep;19(9).
123. Martinez-Outschoorn UE, Peiris-Pages M, Pestell RG, Sotgia F, Lisanti MP. Cancer metabolism: a therapeutic perspective. *Nat Rev Clin Oncol.* 2016/11/03. 2017;14(1):11–31.
124. Wilde L, Roche M, Domingo-Vidal M, Tanson K, Philp N, Curry J, et al. Metabolic coupling and the Reverse Warburg Effect in cancer: Implications for novel biomarker and anticancer agent development. *Semin Oncol.* 2017/12/19. 2017;44(3):198–203.
125. Pedersen BK, Febbraio MA. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nat Rev Endocrinol.* 2012/04/05. 2012;8(8):457–65.
126. Booth FW, Roberts CK, Laye MJ. Lack of exercise is a major cause of chronic diseases. *Compr Physiol.* 2012/04/01. 2012;2(2):1143–211.
127. Peek CB, Affinati AH, Ramsey KM, Kuo HY, Yu W, Sena LA, et al. Circadian clock NAD⁺ cycle drives mitochondrial oxidative metabolism in mice. *Science (80-).* 2013/09/21. 2013;342(6158):1243417.
128. Pekovic-Vaughan V, Gibbs J, Yoshitane H, Yang N, Pathiranage D, Guo B, et al. The circadian clock regulates rhythmic activation of the NRF2/glutathione-mediated antioxidant defense pathway to modulate pulmonary fibrosis. *Genes Dev.* 2014/03/19. 2014;28(6):548–60.
129. Grimaldi B, Bellet MM, Katada S, Astarita G, Hirayama J, Amin RH, et al. PER2 controls lipid metabolism by direct regulation of PPAR γ . *Cell Metab.* 2010/11/03. 2010;12(5):509–20.
130. Benn M, Tybjaerg-Hansen A, Stender S, Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG. Low-density lipoprotein cholesterol and the risk of cancer: a mendelian randomization study. *J Natl Cancer Inst.* 2011/02/03. 2011;103(6):508–19.

131. Borena W, Stocks T, Jonsson H, Strohmaier S, Nagel G, Bjorge T, et al. Serum triglycerides and cancer risk in the metabolic syndrome and cancer (Me-Can) collaborative study. *Cancer Causes Control*. 2010/12/09. 2011;22(2):291–9.
132. Ulmer H, Borena W, Rapp K, Klenk J, Strasak A, Diem G, et al. Serum triglyceride concentrations and cancer risk in a large cohort study in Austria. *Br J Cancer*. 2009/08/20. 2009;101(7):1202–6.
133. Chua EC, Shui G, Lee IT, Lau P, Tan LC, Yeo SC, et al. Extensive diversity in circadian regulation of plasma lipids and evidence for different circadian metabolic phenotypes in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013/08/16. 2013;110(35):14468–73.
134. Benavides A, Siches M, Llobera M. Circadian rhythms of lipoprotein lipase and hepatic lipase activities in intermediate metabolism of adult rat. *Am J Physiol*. 1998/09/05. 1998;275(3 Pt 2):R811-7.
135. Suzuki M, Shimomura Y, Satoh Y. Diurnal changes in lipolytic activity of isolated fat cells and their increased responsiveness to epinephrine and theophylline with meal feeding in rats. *J Nutr Sci Vitaminol*. 1983/08/01. 1983;29(4):399–411.
136. Wolfe RR. The underappreciated role of muscle in health and disease. *Am J Clin Nutr*. 2006 Sep;84(3):475–82.
137. Rajaratnam SM, Arendt J. Health in a 24-h society. *Lancet (London, England)*. 2001 Sep;358(9286):999–1005.
138. Schroder EA, Harfmann BD, Zhang X, Srikuea R, England JH, Hodge BA, et al. Intrinsic muscle clock is necessary for musculoskeletal health. *J Physiol*. 2015 Dec;593(24):5387–404.
139. Peek CB, Levine DC, Cedernaes J, Taguchi A, Kobayashi Y, Tsai SJ, et al. Circadian Clock Interaction with HIF1 α Mediates Oxygenic Metabolism and Anaerobic Glycolysis in Skeletal Muscle. *Cell Metab*. 2017 Jan;25(1):86–92.
140. Saner NJ, Bishop DJ, Bartlett JD. Is exercise a viable therapeutic intervention to mitigate mitochondrial dysfunction and insulin resistance induced by sleep loss? *Sleep Med Rev*. 2018 Feb;37:60–8.
141. Gabriel BM, Zierath JR. The Limits of Exercise Physiology: From Performance to Health. *Cell Metab*. 2017 May;25(5):1000–11.
142. Hawley JA, Hargreaves M, Joyner MJ, Zierath JR. Integrative biology of exercise. *Cell*. 2014/11/25. 2014;159(4):738–49.
143. Neufer PD, Bamman MM, Muoio DM, Bouchard C, Cooper DM, Goodpaster BH, et al. Understanding the Cellular and Molecular Mechanisms of Physical Activity-Induced Health Benefits. *Cell Metab*. 2015 Jul;22(1):4–11.
144. Stevens RG. Circadian disruption and breast cancer: from melatonin to clock genes. *Epidemiology*. 2005/02/11. 2005;16(2):254–8.
145. Grundy A, Schuetz JM, Lai AS, Janoo-Gilani R, Leach S, Burstyn I, et al. Shift work, circadian gene variants and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol*. 2013/06/04. 2013;37(5):606–12.

146. Fu L, Kettner NM. The circadian clock in cancer development and therapy. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2013;119:221–82.
147. Zhu Y, Stevens RG, Hoffman AE, Fitzgerald LM, Kwon EM, Ostrander EA, et al. Testing the circadian gene hypothesis in prostate cancer: a population-based case-control study. *Cancer Res.* 2009 Dec;69(24):9315–22.
148. Relles D, Sendeck J, Chipitsyna G, Hyslop T, Yeo CJ, Arafat HA. Circadian gene expression and clinicopathologic correlates in pancreatic cancer. *J Gastrointest Surg Off J Soc Surg Aliment Tract.* 2013 Mar;17(3):443–50.
149. Tokunaga H, Takebayashi Y, Utsunomiya H, Akahira J-I, Higashimoto M, Mashiko M, et al. Clinicopathological significance of circadian rhythm-related gene expression levels in patients with epithelial ovarian cancer. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2008;87(10):1060–70.
150. Taniguchi H, Fernández AF, Setién F, Ropero S, Ballestar E, Villanueva A, et al. Epigenetic inactivation of the circadian clock gene BMAL1 in hematologic malignancies. *Cancer Res.* 2009 Nov;69(21):8447–54.
151. Gu F, Zhang H, Hyland PL, Berndt S, Gapstur SM, Wheeler W, et al. Inherited variation in circadian rhythm genes and risks of prostate cancer and three other cancer sites in combined cancer consortia. *Int J cancer.* 2017 Nov;141(9):1794–802.
152. Shafi AA, Knudsen KE. Cancer and the Circadian Clock. *Cancer Res.* 2019 Aug;79(15):3806–14.
153. Hughes ATL, Piggins HD. Feedback actions of locomotor activity to the circadian clock. *Prog Brain Res.* 2012;199:305–36.
154. Um J-H, Pendergast JS, Springer DA, Foretz M, Viollet B, Brown A, et al. AMPK regulates circadian rhythms in a tissue- and isoform-specific manner. *PLoS One.* 2011 Mar;6(3):e18450.
155. Lassiter DG, Sjögren RJO, Gabriel BM, Krook A, Zierath JR. AMPK activation negatively regulates GDAP1, which influences metabolic processes and circadian gene expression in skeletal muscle. *Mol Metab.* 2018 Oct;16:12–23.
156. Schmitt K, Grimm A, Dallmann R, Oettinghaus B, Restelli LM, Witzig M, et al. Circadian Control of DRP1 Activity Regulates Mitochondrial Dynamics and Bioenergetics. *Cell Metab.* 2018 Mar;27(3):657-666.e5.
157. Liu C, Li S, Liu T, Borjigin J, Lin JD. Transcriptional coactivator PGC-1alpha integrates the mammalian clock and energy metabolism. *Nature.* 2007/05/04. 2007;447(7143):477–81.
158. Lamia KA, Sachdeva UM, DiTacchio L, Williams EC, Alvarez JG, Egan DF, et al. AMPK regulates the circadian clock by cryptochrome phosphorylation and degradation. *Science.* 2009 Oct;326(5951):437–40.
159. Jordan SD, Kriebs A, Vaughan M, Duglan D, Fan W, Henriksson E, et al. CRY1/2 Selectively Repress PPAR δ and Limit Exercise Capacity. *Cell Metab.* 2017 Jul;26(1):243-255.e6.
160. Wolff CA, Esser KA. Exercise Timing and Circadian Rhythms. *Curr Opin*

- Physiol. 2019/04/27. 2019 Aug;10:64–9.
161. Hornberger TA, Esser KA. Mechanotransduction and the regulation of protein synthesis in skeletal muscle. *Proc Nutr Soc.* 2004 May;63(2):331–5.
 162. Jose C, Hebert-Chatelain E, Bellance N, Larendra A, Su M, Nouette-Gaulain K, et al. AICAR inhibits cancer cell growth and triggers cell-type distinct effects on OXPHOS biogenesis, oxidative stress and Akt activation. *Biochim Biophys Acta.* 2011/06/22. 2011;1807(6):707–18.
 163. Kasznicki J, Sliwinska A, Drzewoski J. Metformin in cancer prevention and therapy. *Ann Transl Med.* 2014/10/22. 2014;2(6):57.
 164. Chung SW, Kim J-Y, Yoon JP, Suh DW, Yeo WJ, Lee Y-S. Atrogin1-induced loss of aquaporin 4 in myocytes leads to skeletal muscle atrophy. *Sci Rep.* 2020 Aug;10(1):14189.
 165. Teixeira AA, Lira FS, Pimentel GD, Oliveira de Souza C, Batainha H, Biondo LA, et al. Aerobic Exercise Modulates the Free Fatty Acids and Inflammatory Response During Obesity and Cancer Cachexia. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2016/09/22. 2016;26(3):187–98.
 166. Patel HJ, Patel BM. TNF- α and cancer cachexia: Molecular insights and clinical implications. *Life Sci.* 2017 Feb;170:56–63.
 167. Peake JM, Della Gatta P, Suzuki K, Nieman DC. Cytokine expression and secretion by skeletal muscle cells: regulatory mechanisms and exercise effects. *Exerc Immunol Rev.* 2015;21:8–25.
 168. Pedersen BK. Muscle as a secretory organ. *Compr Physiol.* 2013 Jul;3(3):1337–62.
 169. Mul Fedele ML, Aiello I, Caldart CS, Golombek DA, Marpegan L, Paladino N. Differential Thermoregulatory and Inflammatory Patterns in the Circadian Response to LPS-Induced Septic Shock. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:100.
 170. Mteyrek A, Filipski E, Guettier C, Okyar A, Levi F. Clock gene Per2 as a controller of liver carcinogenesis. *Oncotarget.* 2016/08/06. 2016;7(52):85832–47.
 171. Gibbs JE, Blaikley J, Beesley S, Matthews L, Simpson KD, Boyce SH, et al. The nuclear receptor REV-ERB α mediates circadian regulation of innate immunity through selective regulation of inflammatory cytokines. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011/12/21. 2012;109(2):582–7.
 172. Figueras M, Busquets S, Carbó N, Almendro V, Argilés JM, López-Soriano FJ. Cancer cachexia results in an increase in TNF- α receptor gene expression in both skeletal muscle and adipose tissue. *Int J Oncol.* 2005 Sep;27(3):855–60.
 173. Collins RA, Grounds MD. The role of tumor necrosis factor- α (TNF- α) in skeletal muscle regeneration. Studies in TNF- α (-/-) and TNF- α (-/-)/LT- α (-/-) mice. *J Histochem Cytochem Off J Histochem Soc.* 2001 Aug;49(8):989–1001.

174. Batista MLJ, Rosa JC, Lopes RD, Lira FS, Martins EJ, Yamashita AS, et al. Exercise training changes IL-10/TNF-alpha ratio in the skeletal muscle of post-MI rats. *Cytokine*. 2010 Jan;49(1):102–8.
175. Molanouri Shamsi M, Chekachak S, Soudi S, Quinn LS, Ranjbar K, Chenari J, et al. Combined effect of aerobic interval training and selenium nanoparticles on expression of IL-15 and IL-10/TNF- α ratio in skeletal muscle of 4T1 breast cancer mice with cachexia. *Cytokine*. 2017 Feb;90:100–8.
176. Maddocks M, Murton AJ, Wilcock A. Therapeutic exercise in cancer cachexia. *Crit Rev Oncog*. 2012;17(3):285–92.
177. Petersen AM, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol*. 2005/03/18. 2005;98(4):1154–62.
178. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002 Dec;420(6917):860–7.
179. Wiseman BS, Werb Z. Stromal effects on mammary gland development and breast cancer. *Science (80-)*. 2002/05/11. 2002;296(5570):1046–9.
180. Sund M, Kalluri R. Tumor stroma derived biomarkers in cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 2009/03/05. 2009;28(1–2):177–83.
181. Ganguly D, Chandra R, Karalis J, Teke M, Aguilera T, Maddipati R, et al. Cancer-Associated Fibroblasts: Versatile Players in the Tumor Microenvironment. *Cancers (Basel)*. 2020 Sep;12(9).
182. Wang M, Zhao J, Zhang L, Wei F, Lian Y, Wu Y, et al. Role of tumor microenvironment in tumorigenesis. *J Cancer*. 2017;8(5):761–73.
183. Zhang Y, Song J, Zhao Z, Yang M, Chen M, Liu C, et al. Single-cell transcriptome analysis reveals tumor immune microenvironment heterogeneity and granulocytes enrichment in colorectal cancer liver metastases. *Cancer Lett*. 2020 Feb;470:84–94.
184. Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Lagorce-Pagès C, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science*. 2006 Sep;313(5795):1960–4.
185. Tian W, Jiang X, Kim D, Guan T, Nicolls MR, Rockson SG. Leukotrienes in Tumor-Associated Inflammation. *Front Pharmacol*. 2020;11:1289.
186. Albini A, Sporn MB. The tumour microenvironment as a target for chemoprevention. *Nat Rev Cancer*. 2007/01/16. 2007;7(2):139–47.
187. McClellan JL, Steiner JL, Day SD, Enos RT, Davis MJ, Singh UP, et al. Exercise effects on polyp burden and immune markers in the ApcMin/+ mouse model of intestinal tumorigenesis. *Int J Oncol*. 2014/05/27. 2014;45(2):861–8.
188. Murphy EA, Davis JM, Barrilleaux TL, McClellan JL, Steiner JL, Carmichael MD, et al. Benefits of exercise training on breast cancer progression and inflammation in C3(1)SV40Tag mice. *Cytokine*. 2011/05/24. 2011;55(2):274–9.
189. Bedke T, Muscate F, Soukou S, Gagliani N, Huber S. Title: IL-10-producing T cells and their dual functions. *Semin Immunol*. 2019 Aug;44:101335.

190. Sun Z, Fourcade J, Pagliano O, Chauvin J-M, Sander C, Kirkwood JM, et al. IL10 and PD-1 Cooperate to Limit the Activity of Tumor-Specific CD8+ T Cells. *Cancer Res.* 2015 Apr;75(8):1635–44.
191. Wilke CM, Wei S, Wang L, Kryczek I, Kao J, Zou W. Dual biological effects of the cytokines interleukin-10 and interferon- γ . *Cancer Immunol Immunother.* 2011 Nov;60(11):1529–41.
192. Wang Y, Sun S-N, Liu Q, Yu Y-Y, Guo J, Wang K, et al. Autocrine Complement Inhibits IL10-Dependent T-cell-Mediated Antitumor Immunity to Promote Tumor Progression. *Cancer Discov.* 2016 Sep;6(9):1022–35.
193. Emmerich J, Mumm JB, Chan IH, LaFace D, Truong H, McClanahan T, et al. IL-10 directly activates and expands tumor-resident CD8(+) T cells without de novo infiltration from secondary lymphoid organs. *Cancer Res.* 2012 Jul;72(14):3570–81.
194. Mumm JB, Emmerich J, Zhang X, Chan I, Wu L, Mauze S, et al. IL-10 elicits IFN γ -dependent tumor immune surveillance. *Cancer Cell.* 2011 Dec;20(6):781–96.
195. Jackaman C, Tomay F, Duong L, Abdol Razak NB, Pixley FJ, Metharom P, et al. Aging and cancer: The role of macrophages and neutrophils. *Ageing Res Rev.* 2017 Jul;36:105–16.
196. Tevis KM, Cecchi RJ, Colson YL, Grinstaff MW. Mimicking the tumor microenvironment to regulate macrophage phenotype and assessing chemotherapeutic efficacy in embedded cancer cell/macrophage spheroid models. *Acta Biomater.* 2017 Mar;50:271–9.
197. Jiang X, Wang J, Deng X, Xiong F, Zhang S, Gong Z, et al. The role of microenvironment in tumor angiogenesis. *J Exp Clin Cancer Res.* 2020 Sep;39(1):204.
198. Paladino N, Mul Fedele ML, Duhart JM, Marpegan L, Golombek DA. Modulation of mammalian circadian rhythms by tumor necrosis factor-alpha. *Chronobiol Int.* 2014/02/18. 2014;31(5):668–79.
199. Leone MJ, Marpegan L, Duhart JM, Golombek DA. Role of proinflammatory cytokines on lipopolysaccharide-induced phase shifts in locomotor activity circadian rhythm. *Chronobiol Int.* 2012/06/28. 2012;29(6):715–23.