

JOANNA DARCK CAROLA CORREIA LIMA

Análise de proteômica do microambiente tumoral de pacientes caquéticos: Desvendando vias biológicas e mecanismos moleculares na caquexia

Tese apresentada ao Programa de Biologia Celular e do Desenvolvimento, no Departamento de Biologia dos Sistemas do Instituto de Ciências Biomédicas da universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor Ciências.

Versão corrigida

São Paulo
2020

JOANNA DARCK CAROLA CORREIA LIMA

Análise de proteômica do microambiente tumoral de pacientes caquéticos: Desvendando vias biológicas e mecanismos moleculares na caquexia

Tese apresentada ao Programa de Biologia Celular e do Desenvolvimento, no Departamento de Biologia dos Sistemas do Instituto de Ciências Biomédicas da universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor Ciências.

Área de concentração: Biologia Celular e Tecidual

Orientadora: Profa. Dra. Marília Cerqueira Leite Seelaender

Versão corrigida

São Paulo
2020

RESUMO

Lima JDCC. **Análise proteômica do microambiente tumoral de pacientes caquéticos:** Desvendando vias biológicas e mecanismos moleculares na caquexia. 2020. **118p** [Tese (Doutorado em Biologia Celular e Tecidual)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2020.

A caquexia é uma síndrome paraneoplásica (CAC) associada ao mau prognóstico. A caquexia é caracterizada por perda de massa muscular com ou sem perda de tecido adiposo. A CAC é impulsionada por uma associação múltipla de alterações metabólicas, incluindo ingestão reduzida de alimentos, gasto energético aumentado e inflamação. O objetivo do presente estudo foi caracterizar proteínas alteradas no tumor de pacientes caquéticos e seus respectivos mecanismos moleculares envolvidos na caquexia. Foram recrutados 74 pacientes (câncer estável em peso $n = 31$; câncer caquético $n = 43$) com diagnóstico de câncer colorretal, e biópsias de tumores foram coletadas durante a cirurgia. A análise proteômica foi realizada. 71 proteínas foram estatisticamente significativamente diferentes entre os grupos (valor de $p < 0,05$). A análise da Ontologia do Gene mostrou que sua maioria das proteínas estavam relacionadas ao metabolismo energético, estresse oxidativo, remodelamento extracelular da matriz e manutenção celular. A fim de aumentar o conhecimento dos mecanismos envolvidos na fibrose e no estresse oxidativo, mostramos a presença de deposição de colágeno no tumor, ativação da alfa-SMA, vimentina e genes relacionados ao estresse oxidativo. Nossos resultados demonstram a ativação da via TGF β no tumor, através p38 MAPK. Os dados sugerem que a resposta inflamatória intratumoral contribui para o aparecimento da fibrose. A remodelação do tumor, provavelmente pela transdiferenciação induzida por TGF β dos fibroblastos para os miofibroblastos, induz um perfil desequilibrado de citocinas inflamatórias, angiogênese e elevação dos componentes da matriz extracelular (EMC). Por outro lado, especula-se que essas alterações possam ser alteradas em resposta à hipóxia no microambiente tumoral de pacientes caquéticos. Além disso, os resultados fornecem informações sobre a adoção de análises de amostras de tumores para o diagnóstico precoce da síndrome.

Palavras-chave: Tumor; Caquexia; Fibrose; Inflamação; Hipóxia; Estresse Oxidativo.

ABSTRACT

Lima JDCC. **Proteomic analysis in tumor microenvironment of cachectic patients: Understanding biological pathways and molecular mechanisms in cachexia.** 2020. 118p [Tese (Doutorado em Biologia Celular e Tecidual)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2020.

Cachexia is a paraneoplastic syndrome related with poor prognosis. Cachexia is characterised by muscle wasting with or without loss of adipose tissue. CAC is driven by multiple association of metabolic changes including reduced food intake, enhanced energy expenditure and inflammation. The aim of the present study was to characterize proteins altered in the tumour and respective the molecular mechanisms involved in cachexia. Methods 74 patients (weight stable cancer n = 31; cachectic cancer n = 43) diagnosed with colorectal cancer were recruited, and tumour biopsies were collected during surgery. Proteomic analysis was performed. 71 proteins were statistically significantly different between the groups (p value<0.05). Gene Ontology analysis showed that their majority consisted of proteins related with energetic and protein metabolism, oxidative stress, matrix extracellular remodelling and cellular maintenance. In order to increase the knowledge of the mechanisms involved in the fibrosis and oxidative stress, we show the presence of collagen deposition in the tumour, activation of alfa-SMA, vimentin and genes related to oxidative stress. Our results demonstrate TGF- β pathway activation in the tumour in cachexia, through the (non-canonical) mitogen-activated protein kinase pathway. The results show that during cachexia, intratumoural inflammatory response contributes to the onset of fibrosis. Tumour remodelling, probably by TGF- β -induced transdifferentiation of fibroblasts to myofibroblasts, induces unbalanced inflammatory cytokine profile, angiogenesis, and elevation of extracellular matrix components (EMC). On the other hand, we speculate that these changes may be altered in response to hypoxia in tumor microenvironment of cachectic patients. Furthermore, the results provide insight on the adoption of tumour sample analysis for precocious diagnosis of the syndrome.

Keywords Tumour; Cachexia; Fibrosis; Inflammation; Hypoxia; Oxidative stress.

Introdução

1. INTRODUÇÃO

A caquexia é caracterizada como uma síndrome metabólica que causa extrema perda de massa corporal, especificamente perda de massa muscular que pode estar associada ou não a perda de tecido adiposo (FEARON et al., 2011). É um sintoma que se associa há inúmeras condições crônicas, tais como, insuficiência renal crônica, Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS – do inglês *Acquired Immunodeficiency Syndrome*), doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), esclerose múltipla e câncer. De modo geral, o quadro de caquexia leva ao comprometimento funcional, desempenho físico diminuído e, conseqüentemente, redução da sobrevida (EVANS et al., 2008; TISDALE, 2009). A caquexia associada ao câncer é considerada uma doença progressiva e as manifestações clínicas dos pacientes são variáveis, porém, sempre sendo associadas a perda de massa corporal, presença ou não da anorexia, fadiga, náusea, saciedade precoce, anemia e presença marcante da inflamação sistêmica (EVANS et al., 2008; FEARON et al., 2011; LAVIANO; KOVERECH; MARI, 2015; LAVIANO; PALDINO, 2014).

Quando associada ao câncer, a prevalência geral de caquexia varia de 40%, no diagnóstico do câncer, a 80%, na doença avançada. E tem sido considerada a causa de morte direta e principal de 20% a 30% dos pacientes com tumores sólidos, além de reduzir a sobrevida média em até 30% (BRUERA, 1997; FOX et al., 2009; TISDALE, 2009; VON HAEHLING; ANKER, 2014). A caquexia pode se desenvolver em diversos tipos de tumores, porém, já foi demonstrado que a maior incidência é no câncer de pâncreas (88,9%), seguido pelo câncer gástrico (76,5%), câncer de cólon e reto (55%) e câncer de esôfago (52,9%) (SUN; QUAN; YU, 2015).

Infortunadamente, é provável que a incidência de caquexia associada ao câncer aumente nos próximos anos. Uma estimativa recente sugeriu que mais de 160.000 pessoas nos Estados Unidos se encontram no hospital com um diagnóstico de caquexia a cada ano (ARTHUR et al., 2014). Apesar de décadas de pesquisa, não existe tratamento padrão aprovado pela Administração de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos (FDA – do inglês *Food and Drug Administration*); o desenvolvimento terapêutico no campo

da caquexia associada ao câncer permanece uma necessidade crítica não atendida (DUNNE et al., 2019). Além disso, embora a nutrição seja um elemento essencial no tratamento do câncer, estudos demonstraram que embora alguns pacientes apresentem um efeito benéfico para o aconselhamento nutricional (DE WAELE et al., 2015; RAVASCO, 2015), outros estudos mostraram que o aconselhamento dietético precoce foi eficiente para estabilizar a ingestão alimentar, mas não teve efeito benéfico sobre a mortalidade e outros parâmetros da síndrome (BOURDEL-MARCHASSON et al., 2014) confirmando, portanto, que do ponto de vista clínico, uma vez estabelecida, a caquexia não pode ser revertida com suplementação e estratégias terapêuticas nutricionais (ARGILÉS et al., 2019; FEARON et al., 2011).

Fisiologicamente, a caquexia é caracterizada por um balanço energético negativo, além de alterações hormonais e de neuropeptídeos associados aos mecanismos de saciedade, bem como mecanicamente pela contribuição do microambiente tumoral através da criação de um ambiente inflamatório gerando um caos metabólico (PETRUZZELLI; WAGNER, 2016; PORPORATO, 2016). Diante disso, a caquexia tem sido abordada como uma síndrome multifatorial e multiórgãos, que resulta da reprogramação sistêmica do metabolismo do hospedeiro em resposta, também, ao crescimento e progressão do tumor. De fato, um vasto número de artigos na literatura demonstram que o tumor pode promover e induzir a caquexia secretando fatores que influenciam diretamente na perda de tecido adiposo e muscular (HE et al., 2014; LIN; SCOTT, 2012; PETRUZZELLI et al., 2014; ZHANG et al., 2017) além de promover alterações e desbalanço na função de órgãos, tais como, fígado, intestino, cérebro e sistema imunológico, sendo considerada uma síndrome multiorgânica (ARGILÉS et al., 2014; EVANS et al., 2008; PORPORATO, 2016). Embora o papel do tumor no desenvolvimento da caquexia tenha sido cada vez mais investigado devido sua extrema contribuição no desenvolvimento da síndrome, a caquexia associada ao câncer não é apenas uma complicação da progressão do tumor como massa, pois as células tumorais induzem alterações sistêmicas. Algumas evidências científicas já demonstraram que a incidência de caquexia não é relacionada com a progressão e estadiamento tumoral (LIMA et al., 2019a; PETRUZZELLI;

WAGNER, 2016; YOUNES; NOGUCHI, 2000). De certo modo, isso indica a importância de entender ativamente a interação entre o tumor e o hospedeiro em nível sistêmico, com um foco particular nas dependências metabólicas dos tumores em crescimento.

Apesar dos avanços científicos obtidos até os dias atuais que caracterizam a caquexia como um processo inflamatório crônico, ainda assim, não existem ferramentas e critérios de diagnóstico e tratamento disponíveis nas bases científicas e clínicas, tendo em vista complexidade da síndrome. Diante disso, a importância no entendimento entre a interação complexa do microambiente tumoral e seu hospedeiro, é de extrema necessidade para definir e caracterizar o melhor tratamento dos pacientes com caquexia associada ao câncer. A análise proteômica no tumor de pacientes com caquexia é uma oportunidade para investigar proteínas que possam servir como biomarcadores, bem como, entender funções e vias biológicas alteradas que possam direcionar o caminho para o tratamento da síndrome.

Revisão Bibliográfica

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. História da caquexia

Historicamente, a caquexia foi descrita há mais de 3.500 anos em trechos bíblicos pelo rei Davi, considerado o segundo e maior dos reis de Israel, cujo sofria de um distúrbio alimentar. Em suas descrições, o rei Davi relatou em uma passagem bíblica momentos desde a falta de ingestão de alimentos, através da parte “ *I forgot to eat my bread/ eu esqueci de comer meu pão*”, que aborda o quadro de anorexia (falta de apetite), como também, demonstra a perda de peso extrema e involuntária, associada à fraqueza e fadiga, através da parte “ *My knees are weak through fasting; and my flesh failed of fatness; My strenght failed.../ “Meus joelhos estão fracos pelo jejum; e minha carne falhou em gordura; e minha força falhou...”*. (BEN-NOUN, 2004)

Posteriormente, Hipócrates (460 - 377 a.C.), um dos criadores da medicina grego, escreveu:

“the flesh is consumed and becomes water...the abdomen fills with water, the feet and legs swell, the shoulders, clavicles, chest, and thighs melt away... The illness is fatal/A carne é consumida e se transforma em água... o abdômen se enche de água, os pés e as pernas incham, os ombros, as clavículas, o tórax e as coxas desaparecem ... A doença é fatal.”

Em seus relatos transcritos, a caquexia é considerada uma síndrome que transforma a carne em água, se tornando uma doença fatal (VAKIL; GOLWALA, 1951). Sendo assim, o termo caquexia é derivado de palavras gregas, e resultante da combinação das palavras *kakos*, que significa má e *hexis*, que significa condição (DOEHNER; ANKER, 2002).

Em meados de 1860, um médico francês, Charles Mauriac descreveu pela primeira vez a caquexia em doenças cardíacas, abordando a perda de peso involuntária como um fenômeno secundário comumente observados em doenças cardíacas. Mais recentemente, a ganhadora do Prêmio Nobel de

Literatura de 2009, Herta Müller, escreveu em seu livro “The Hunger Angel” que “uma vez que a carne desaparece do corpo, carregar os ossos se torna um fardo; atrai você para a terra”(HERTA, 2009). Subsequentemente, a caquexia foi sendo cada vez mais estudada e descoberta como uma consequência e complicação em inúmeras doenças, e somente nas últimas décadas a síndrome recebeu uma maior atenção (DOEHNER; ANKER, 2002). Embora os avanços obtidos nos últimos 20 anos, a etiologia da caquexia continua desconhecida, bem como ainda não existem critérios fidedignos para diagnóstico clínico, o que impede e inviabiliza uma terapia eficaz (ARGILÉS et al., 2014; EVANS et al., 2008; FEARON et al., 2011; MADDOCKS et al., 2016)

2. Definição clínica

Em linhas gerais, a caquexia tem sido caracterizada como uma síndrome metabólica altamente complicada, associada às doenças subjacentes e primordialmente caracterizada pela perda involuntária de peso, principalmente de massa muscular com ou sem perda de massa gordurosa, além de comumente associada à anorexia e resistência à insulina. Além disso, a característica e manifestação mais constante na caquexia é a presença da inflamação sistêmica. (MORLEY; THOMAS; WILSON, 2006; PORPORATO, 2016; SEELAENDER et al., 2015)

Conforme descrito anteriormente, embora a caquexia não seja até o momento, alvo de uma definição exata, precisa e uniforme, muitas definições de caquexia foram publicadas e discutidas na literatura (BLUM et al., 2010; EVANS et al., 2008; FEARON et al., 2011; MUSCARITOLI et al., 2010). Porém, apenas nos anos atuais, as diretrizes para o diagnóstico da caquexia associada ao câncer surgiram e seguem aparecendo. Definições anteriores descreveram a caquexia como "uma síndrome envolvendo a perda de músculo e gordura diretamente causada diretamente por fatores tumorais, ou indiretamente através da resposta do hospedeiro à presença do tumor" (MACDONALD et al., 2003) Posteriormente, aprimorando essa definição, além da perda de peso, outros parâmetros foram inseridos, tais como a presença da

inflamação sistêmica, pois estudos indicam consistentemente a presença desse sintoma (FEARON; VOSS; HUSTEAD, 2006).

Esses inúmeros e importantes avanços na comunidade científica que estuda caquexia, houve um consenso internacional com critérios para diagnóstico da caquexia. Desse modo, em 2008, Evans e colaboradores, propuseram uma definição de caquexia baseado nas descobertas até o presente momento, utilizando critérios específicos de diagnóstico que consistia na perda de peso involuntária acrescidas de importantes alterações em parâmetros físicos e bioquímicos (EVANS et al., 2008). Nesse consenso, alguns parâmetros foram estabelecidos como critérios de definição, nos quais incluem-se a perda involuntária de peso corporal nos últimos 12 meses, que significa uma percentagem de perda de peso menor/igual a 5% do peso corporal anterior relatado ou índice de massa corporal (IMC) menor que 20kg/m², acrescidos de mais três das cinco alterações, a saber: diminuição da força muscular, fadiga, anorexia, diminuição da massa livre de gordura e alterações bioquímicas caracterizadas pela anemia, através dos valores de hemoglobina menor que 12g/dL; alterações nas concentrações séricas da albumina (<3,2g/dL) e aumento de marcadores inflamatórios, que podem ser mensurados tanto pelo aumento de proteínas de fase aguda, quanto pelo aumento de proteína C-reativa (PCR) e também, um aumento em citocinas inflamatórias, conforme descrito através do aumento da interleucina-6, como pode ser observado abaixo na figura 1.

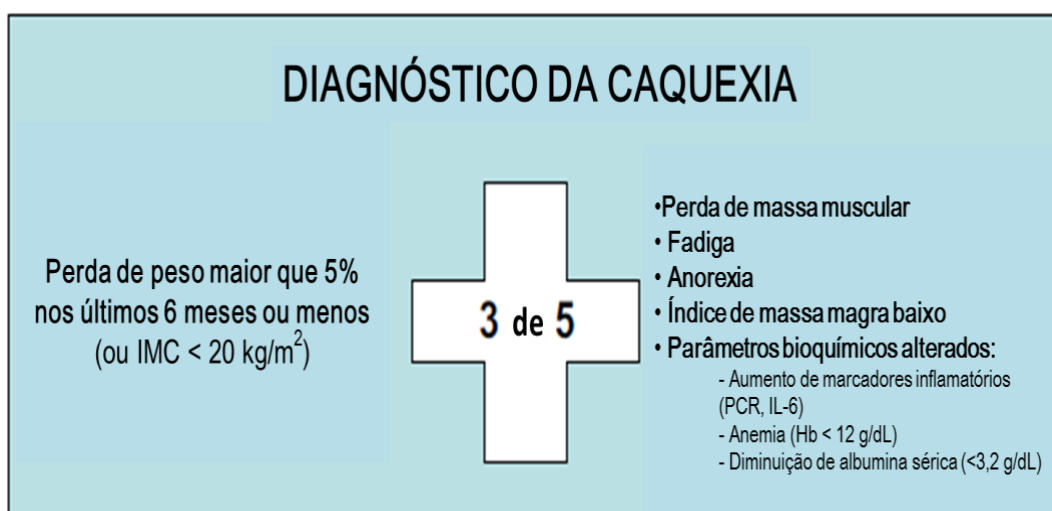


Figura 1 Critérios para diagnóstico da Caquexia (adaptado de EVANS et al., 2008).

Posteriormente, em 2009, o grupo de trabalho Triagem do Estado Nutricional em Oncologia (SCRINO) definiu caquexia como perda de peso superior a 10% e estabeleceu classes de caquexia com base em anorexia, saciedade precoce e fadiga (BOZZETTI; MARIANI, 2009).

Em 2011, uma outra classificação e definição do consenso internacional propôs mediante os dados publicados na literatura, que a caquexia ainda pode ser subdividida e observada em fases de relevância clínica: pré-caquexia, caquexia e caquexia refratária, conforme ilustrado na Figura 2. De acordo com Fearon e colaboradores, na fase inicial, chamada de pré-caquexia, foi incluído os pacientes que apresentavam uma perda de peso corporal $\leq 5\%$, presença de anorexia e alterações metabólicas; a fase posterior, chamada de caquexia propriamente dita, foi definida como presença da perda de peso involuntária e $> 5\%$ durante um período de 6 meses, ou também pelo IMC $< 20 \text{ kg/m}^2$; e, a última fase, denominada de caquexia refratária, inclui os pacientes que não respondem mais às terapias anticâncer. (FEARON et al., 2011)

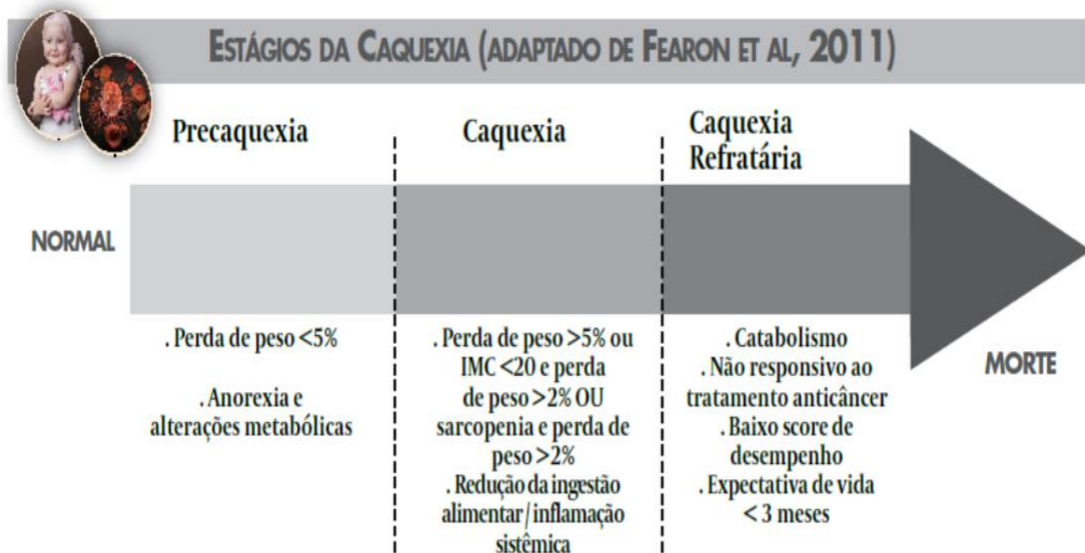


Figura 2 Estágios da caquexia associada ao câncer no Consenso Brasileiro de Caquexia (adaptado de FEARON et al., 2011).

Atualmente, uma década após a definição do primeiro consenso internacional de caquexia, a comunidade e sociedade científica têm discutido em conferências internacionais a necessidade da atualização da definição de

caquexia. As descobertas atuais permitem uma análise precisa de quantificação de perda de massa muscular, através de análises secundárias de imagens oncológicas padrão (BARACOS; MAZURAK; BHULLAR, 2019) bem como, já foi demonstrado mecanismos relacionados com a expressão de hormônios que regulam o peso corporal, ingestão de alimentos e a homeostase energética (VANHOUTTE et al., 2016). Diante disso, existe uma necessidade atual das definições de caquexia serem atualizadas para garantir uma melhora no diagnóstico precoce da síndrome além de guiar e direcionar novos alvos e estratégias terapêuticas.

3. Fisiopatologia da caquexia

Os mecanismos fisiopatológicos envolvidos na caquexia são complexos. A caquexia é caracterizada por aumento da taxa metabólica basal que não é compensada pelo aumento da ingestão calórica. Acredita-se que, no caso da caquexia, o aumento do gasto energético em repouso é uma possível causa da síndrome (POEHLMAN et al., 1994; SOMERVILLE; KOORNNEEF, 2002). Em adição, estudos demonstram um desbalanço entre síntese proteica e degradação proteica, levando para um quadro de perda de músculo esquelético (BHOGAL; LORITE; TISDALE, 2006; HARDEE; MONTALVO; CARSON, 2017; SMITH; TISDALE, 1993).

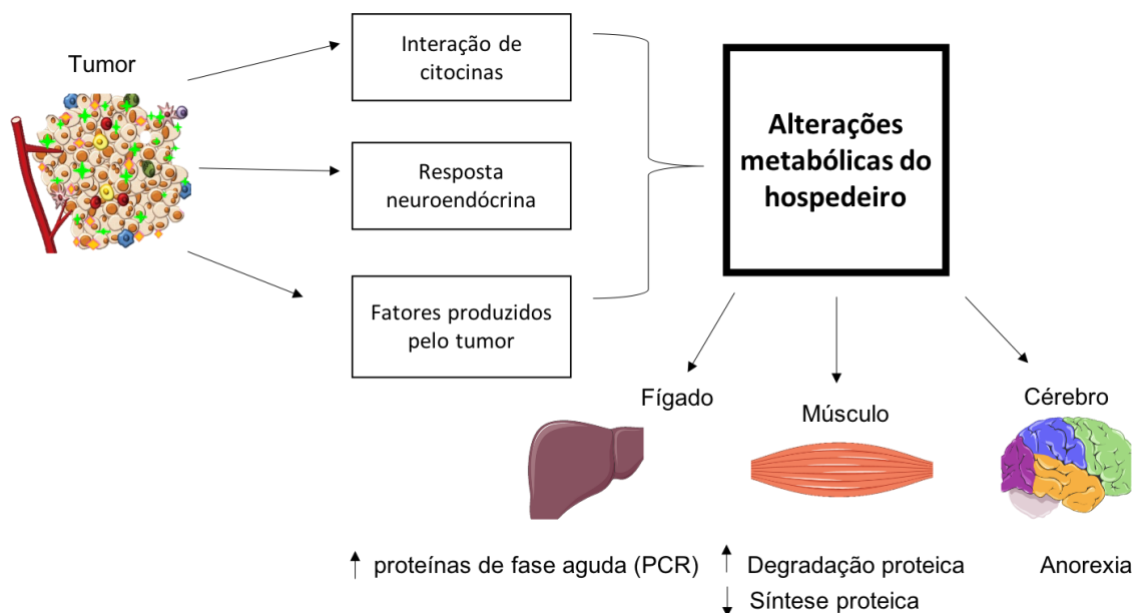
Baseado nas alterações metabólicas observadas na caquexia, percebe-se que essas questões são resultados da interação de fatores tumorais, fatores do hospedeiro e também da interação entre eles (DONOHOE; RYAN; REYNOLDS, 2011). Nesse contexto, o papel do tumor é diretamente relacionado pela produção de fatores pró-inflamatórios, que resultam e iniciam a resposta inflamatória sistêmica, bem como os fatores pró-caquéticos que estão relacionados com os efeitos catabólicos dos tecidos periféricos. (M.J., 2010; SKIPWORTH et al., 2007). Estudos realizados na urina de pacientes com caquexia associada ao câncer, demonstraram a presença de uma glicoproteína denominada fator indutor de proteólise (PIF) (TODOROV et al., 1996) que atua diretamente na depleção de músculo esquelético, bem como, recentemente foi identificado o fator de mobilização de lipídeos (LMF) que atua diretamente na

perda de massa adiposa (RUSSELL; TISDALE, 2010). Além desses fatores, o resultado da interação entre tumor e hospedeiro culminam em uma produção excessiva de citocinas inflamatórias que acarretam em sintomas da caquexia (Figura 3). As citocinas regulam as vias de síntese e degradação proteica, atuam no metabolismo lipídico na caquexia, bem como, influencia na produção de proteínas de fase aguda no fígado (FALCONER et al., 1995; GORDON; GREEN; GOGGIN, 2005; YOUNG-HEE et al., 2008).

O papel central das citocinas é funcionar como mediadores intercelulares parácrinos. Assim, as citocinas desenvolvem um papel importante na imunomodulação e têm sido implicadas na etiologia da caquexia. Além de atuar na interação célula-a-célula as citocinas podem modular na resposta antitumoral; todavia, durante a inflamação crônica, elas podem induzir a transformação celular e malignidade (ARGILÉS et al., 2009; MANTOVANI; MADEDDU, 2007) bem como, mediar o perfil de infiltrado inflamatório no tumor (DONOHOE; RYAN; REYNOLDS, 2011). Estudos em pacientes já caracterizam diferenças no perfil de macrófagos infiltrados no tumor de pacientes com caquexia (DE MATOS-NETO et al., 2015a). Não se sabe até o presente momento se a produção de citocinas inicia-se a partir de células inflamatórias tumorais ou hospedeiras. Acredita-se que independente da fonte de produção inicial, ocorre uma produção no tumor (local), bem como em tecidos periféricos, pela resposta do hospedeiro, e essa produção excessiva atua como gatilho da resposta proteica da fase aguda (APPR) observada na caquexia (DONOHOE; RYAN; REYNOLDS, 2011).

Estudos científicos descreveram o aumento sérico de várias citocinas pró-inflamatórias promovendo a caquexia em pacientes, entre elas, fator de necrose tumoral alfa (TNF α), interleucina-6 (IL-6), interleucina-1 (IL-1) e interferon gama (IFN γ) (M.J., 2010; MANTOVANI et al., 2000; STRASSMANN et al., 1992; TISDALE, 1997). Em adição, estudos recentes analisando a inflamação local no tumor de pacientes caquéticos mostraram alterações na expressão gênica e proteica de citocinas inflamatórias (DE MATOS-NETO et al., 2015a; LIMA et al., 2019b), bem como, a presença de inflamação em tecidos periféricos, tais como, tecido adiposo (ALVES et al., 2017a; CAMARGO et al., 2015a) e musculo (DE CASTRO et al., 2019). Recentemente, estudos tem descrito IL-8 como um importante biomarcador na caquexia associada ao

câncer. Um estudo realizado com 110 pacientes com câncer pancreático, encontrou IL-8 aumentado nos indivíduos com caquexia, além de apresentar um aumento gradual com a progressão da doença, através da relação com a perda de peso (HOU et al., 2018). Recentemente, uma análise de transcriptoma no tumor de pacientes com câncer de pulmão de células pequenas revela uma alta expressão de IL-8 correlacionada com pior prognóstico, além de induzir atrofia muscular (CURY et al., 2019). Estudos pioneiros na caquexia em modelos animais, demonstraram que a administração crônica dessas citocinas, isoladamente ou em combinação, é capaz de reduzir a ingestão de alimentos e induzir a caquexia do câncer (GELIN et al., 2014; NOGUCHI et al., 1996). Em paralelo, estudos que utilizaram anticorpos especificamente anti-IL-6, anti-IL-1 e anti-IFN- γ , demonstraram efeitos positivos na redução da manifestação da caquexia, muito embora, nenhum anticorpo isolado tenha comprovadamente revertido todas as características da síndrome (NOGUCHI et al., 1996). Mais recente, estudos usando anticorpos neutralizantes contra o TNF α não mostraram benefício, sugerindo que atingir apenas o TNF α não é suficiente para prevenir a caquexia (JATOI et al., 2010).



(Adaptado de Skipworth et al. (2007).

Figura 3 Fisiopatologia da caquexia

Baseado no papel central do microambiente tumoral na contribuição do desenvolvimento da caquexia, é de extrema importância entender os mecanismos moleculares relacionados entre a interação tumor-hospedeiro na gênese desta síndrome. Por ser considerada uma patologia multifatorial, estudos anteriores do nosso grupo demonstrou que o tumor contribui efetivamente para o processo de inflamação sistêmica na caquexia (DE MATOS-NETO et al., 2015a; LIMA et al., 2019b). Mediante essa extrema importância do tumor na caquexia, é necessário investigar outras possíveis alterações e funções moleculares que podem estar induzindo a caquexia, a fim de auxiliar na busca de biomarcadores para diagnóstico, bem como, possíveis vias metabólicas que possam ser investigadas para desenvolvimento de estratégias terapêuticas na caquexia.

4. Câncer colorretal e o microambiente tumoral

O câncer colorretal (CRC) é considerado a terceira principal causa de morte por câncer no mundo, e sua incidência está aumentando constantemente nos países em desenvolvimento (RAWLA; SUNKARA; BARSOUK, 2019) e é associado com o desenvolvimento de caquexia em até 55% dos casos (SUN; QUAN; YU, 2015). Os fatores de risco hereditários e ambientais desempenham um papel no desenvolvimento do câncer colorretal. O CRC se origina de lesões benignas conhecidas como adenomas que podem acumular mutações nas vias de sinalização críticas para a manutenção de células-tronco, proliferação e supressão tumoral (FEARON, 2011; FEARON; VOGELSTEIN, 1990) e podem evoluir para CRCs invasivos que podem, finalmente, se espalhar para órgãos distantes, caracterizando a metástase.

Os CRCs na verdade compreendem um grupo muito heterogêneo de doenças causadas por uma vasta gama de mutações e mutagênicos. Globalmente, existem duas principais vias de lesão no câncer colorretal: a via tradicional de adenoma-carcinoma, que acomete 70-90% dos cânceres colorretais e a via de neoplasia serrilhada (10-20 % de câncer colorretal). Os fenótipos de instabilidade cromossômica geralmente se desenvolvem por uma

mutação APC, seguidos pela ativação do RAS ou perda de função do TP53. Por outro lado, a via de neoplasia serrilhada está associada a mutações RAS e RAF e instabilidade epigenética (DEKKER et al., 2019). O tratamento primordial para o câncer colorretal continua sendo o principal curso de tratamento nos casos de diagnóstico precoce, porém não é um tratamento eficaz nos casos avançados. (TAURIELLO; BATLLE, 2016).

O microambiente tumoral é fator determinante e dominante do comportamento das células tumorais e da progressão do câncer. O microambiente tumoral é composto por células tumorais, células do tecido de origem, fibroblastos, células que formam os vasos sanguíneos, componentes estruturais da matriz extracelular, fatores de crescimento e células do sistema imune que se infiltram no tumor (WANG et al., 2017). Durante a evolução do tumor, ocorrem alterações na composição do estroma do tumor. Os fibroblastos tornam-se fibroblastos ativados chamados CAFs e o conteúdo geral da matriz extracelular (MEC) é remodelado. Numerosos pesquisadores apoiaram que o estroma associado a tumores participa da progressão do tumor, metástase e resposta à quimioterapia (SANDBERG et al., 2019).

Nos anos 2000, Hanahan e Weinberg (HANAHAN; WEINBERG, 2000) publicaram um trabalho descrevendo capacidades das células tumorais, que consistiam principalmente no crescimento e proliferação, mecanismos de evasão do sistema imunológico e apoptose, sustentação da angiogênese e conseqüentemente, capacidade de invasão e metástase, e além disso, a inflamação promovida pelo tumor (Figura 4) (HANAHAN; WEINBERG, 2011)

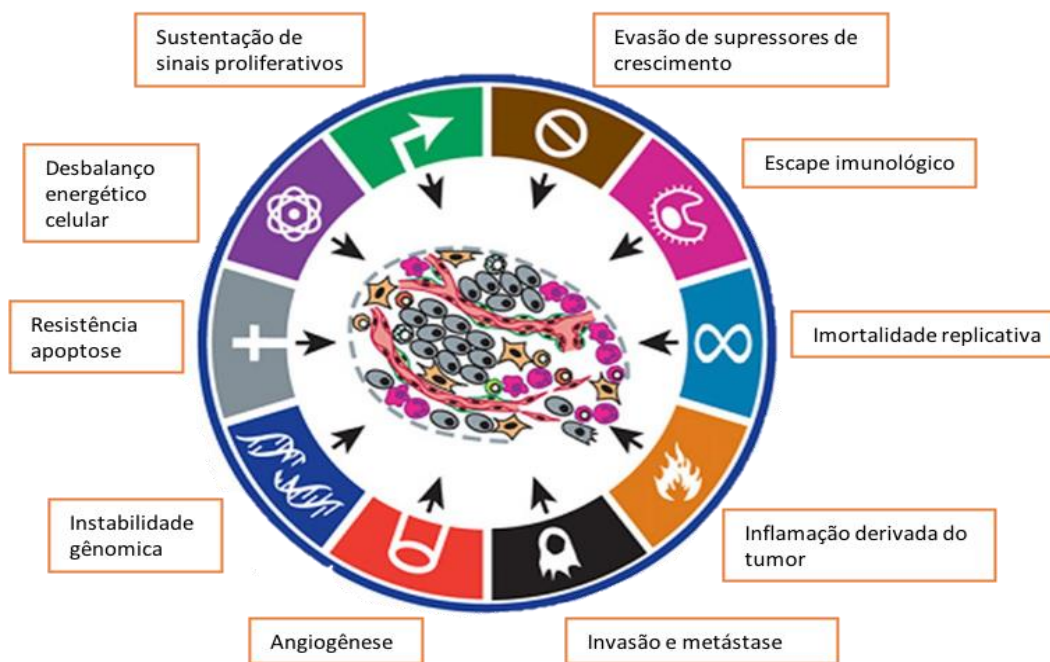


Figura 4 Hallmarks do câncer .
Adaptado de Hanahan e Weinberg, 2011.

Entre as marcas do câncer descritas por Hanahan e Weinberg, está o processo de proliferação celular descontrolado. Esse processo é mediado por estímulos autócrinos, entre as próprias células tumorais, através da interação de fatores de crescimento e receptores de superfície tumorais, bem como, estímulo parácrinos, que ocorrem entre células tumorais e outros componentes do microambiente (HANAHAN; WEINBERG, 2011). Em determinadas situações, as células tumorais se adaptam e estimulam o remodelamento do microambiente tumoral para sobreviver as condições adversas, como por exemplo, na ausência de oxigênio (hipóxia) e falta de nutrientes, por meio da ativação do processo de angiogênese (FOLKMAN, 1972; WYCKOFF et al., 2004), além de recrutar células inflamatórias (ativação do sistema imunológico) e fibroblastos e também ocorre um processo de remodelamento da matriz extracelular (KYRIAKIDES et al., 2001; QUINTERO-FABIÁN et al., 2019)

Um evento crucial que inicia o processo angiogênese é a estabilização do fator induzível por hipóxia 1-alfa (HIF-1 α)(COLEMAN; RATCLIFFE, 2009; MAXWELL; RATCLIFFE, 2002; PUGH; RATCLIFFE, 2003). No microambiente tumoral sabe-se que a citocina inflamatória, IL-1 β , pode regular a expressão do HIF-1 α e conseqüentemente ativar fatores pró-angiogênicos, tais como, o fator

de crescimento endotelial vascular (VEGF). Esse processo demonstra que a inflamação atua como um fator chave no desenvolvimento do tumor (FORSYTHE et al., 1996; JUNG et al., 2003; VORONOV et al., 2002). A importância de entender o processo de angiogênese no tumor ocorre devido ao fato de ser o caminho mecânico de conexão com todos os outros órgãos do indivíduo, causando os efeitos sistêmicos.

Outro *hallmark* descrito por Hanahan e Weinberg, foi a capacidade de invasão das células tumorais. Essa aquisição de motilidade das células tumorais pode ocorrer principalmente pelo processo conhecido como transição epitelial-mesenquimal (EMT), que pode ser induzido pelos processos de inflamação e fibrose, evento no qual as células tumorais adquirem características de fibroblastos, aumentando a motilidade até alcançar os vasos sanguíneos (LAMBERT; PATTABIRAMAN; WEINBERG, 2016; ROCHE, 2018). A característica principal da EMT é perda da expressão de marcadores epiteliais (E-caderina) e, em muitos tumores, o aumento da expressão de fatores mesenquimais, tais como, N-caderina and vimentina (LOH et al., 2019; RØSLAND et al., 2019; THIERY, 2003; THIERY et al., 2009). Estudos mostram que fibrose no tumor é associada com o aumento da expressão de MEC, incluindo colágeno, actina do músculo liso (SMA) e vimentina, bem como esses fatores são descritos por serem mediados pelo fator de crescimento transformador beta (TGF β) (GRELET et al., 2017; NISSEN; KARSDAL; WILLUMSEN, 2019).

Em uma análise crítica ao artigo publicado Hanahan e Weinberg (2011), Fiaschi and Chiarugi (2012) demonstram que espécies reativas de oxigênio (ERO) exercem um papel fundamental que afeta várias características do câncer discutidas por Hanahan e Weinberg (2011), considerando estudos que demonstraram que os principais componentes do estresse oxidativo são altamente expressos em tumores, além de contribuírem diretamente para proliferação, resistência apoptose e induzindo o processo de angiogênese. (FIASCHI; CHIARUGI, 2012). Além da contribuição regulatória do microambiente tumoral, o estresse oxidativo atua também no estroma, conforme descrito anteriormente, induzindo o processo de fibrose tumoral. Já foi de fato demonstrado a ativação dos fibroblastos é profundamente afetada pelo estresse oxidativo no câncer (TOULLEC et al., 2010). Os fibroblastos

associados ao câncer (CAFs) contribuem na promoção de um ambiente pró-oxidante e já foi identificado em diversos tipos de tumores, onde exercem seus efeitos por diferentes mecanismos, incluindo a secreção de fatores pró-inflamatórios (ARCUCCI et al., 2016; CHAN et al., 2017; GRIVENNIKOV; GRETEN; KARIN, 2010; QIAN; POLLARD, 2010) (Figura 5).

Curiosamente, estudos demonstram que a hipóxia é diretamente relacionada ao aumento de ERO e promovem a progressão do tumor (TAFANI et al., 2016; WEINBERG; RAMNATH; NAGRATH, 2019). A ativação de HIF ocorre em resposta ao estresse. Em um ambiente hipóxico, a hidroxilação de HIF α é inviabilizada e conseqüentemente induz a estabilização desse fator e translocação para o núcleo, o que induz a transcrição de genes e fatores inflamatórios (SCHÖDEL; RATCLIFFE, 2019; SEMENZA, 2013). No microambiente tumoral, o estresse oxidativo e a produção de ERO servem de substrato e fonte para estabilizar HIF-1 α durante a hipóxia, produzindo efeitos que variam desde reprogramação metabólica ao fenótipo glicolítico, aumentando a capacidade de tumorigênese e resistência à apoptose e tratamentos quimioterápicos (AL TAMEEMI et al., 2019; JING et al., 2019)

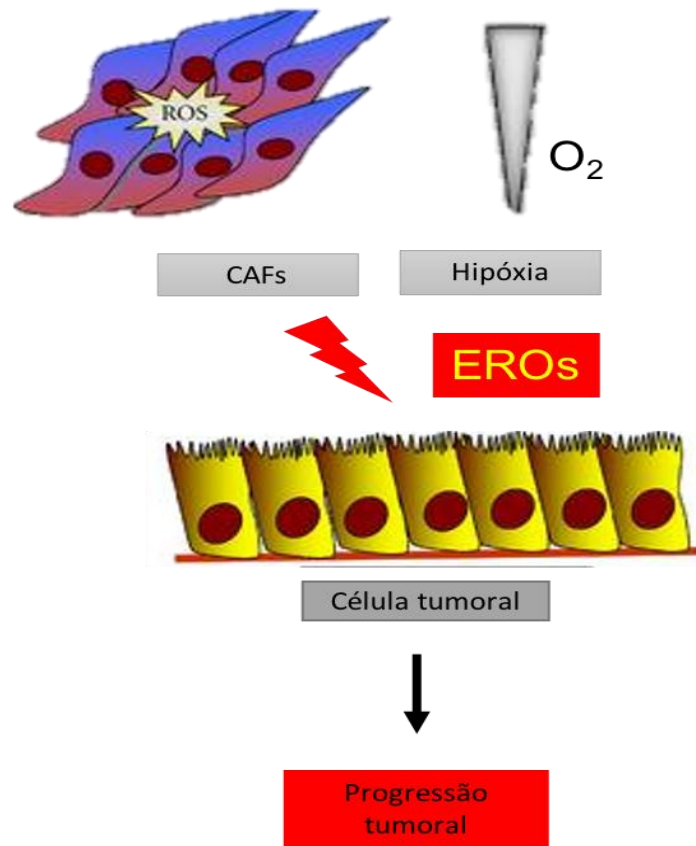


Figura 5 Estresse oxidativo no microambiente tumoral

(Adaptado Fiaschi e Chiarugi, 2012)

O processo de reprogramação metabólica sofrido no tumor em resposta ao ambiente hipóxico e mediado pelas espécies reativas de oxigênio é principalmente caracterizada pelo aumento da atividade da via glicolítica e pela desregulação do metabolismo lipídico, definido pelo efeito Warburg. (AVAGLIANO et al., 2018; O. WARBURG, 1956; W et al., 2018). Essa correlação positiva entre hipóxia, estresse oxidativo e CAFs, induzem as células tumorais a carregar o lactato, produzido pelas células hipóxicas ou CAFs e nutrem as células tumorais mais oxidativas através da respiração e das funções anabólicas (PAVLIDES et al., 2009, 2010). Sabe-se que as células tumorais com altos níveis de ERO podem causar uma disfunção mitocondrial, atividade oncogênica, atividade peroxissômica, atividade aumentada de oxidases, cicloxigenases, lipoxigenases (LIOU; STORZ, 2010). Além disso, já foi demonstrado que as células tumorais usam essa relação entre o

metabolismo e estresse oxidativo para induzir o crescimento e proliferação celular, de modo que, ao utilizar substratos e intermediários metabólicos nas vias bioquímicas que levam à produção das principais moléculas antioxidantes, as células tumorais apoiam diretamente os mecanismos de desintoxicação de ERO [14,19]. Recentemente foi demonstrado que o estresse oxidativo leva a limitação da fosforilação oxidativa (KUMARI et al., 2018) e além disso, regula a atividade da piruvato quinase 2 (PKM2), enzima que regula a etapa final da glicólise (GHANBARI MOVAHED et al., 2019). Essas inúmeras alterações metabólicas têm efeito no transcriptoma da célula tumoral, permitindo a adaptação para lidar com altos níveis de ROS, regulando positivamente os sistemas de defesa anti-oxidante e ajudando as células cancerígenas a reprogramação da atividade metabólica para o aumento da capacidade de sobreviver em um ambiente hostil.

Na caquexia, o papel do estresse oxidativo ainda permanece obscuro, porém inúmeros estudos definem como um dos mecanismos mais comuns de diferentes causas de caquexia (ÁBRIGO et al., 2018a). Essas definições são baseadas devido ao aumento de EROs no músculo em pacientes caquéticos e modificações de proteínas dependentes de oxidação (LAVIANO et al., 2007; LI et al., 1998). Estudos recentes com pacientes com caquexia associada ao câncer demonstraram oxidação de proteínas no músculo esquelético e uma diminuição dos níveis de antioxidantes no soro (BARREIRO et al., 2005; MANTOVANI et al., 2003). Acredita-se, portanto, que o estresse oxidativo pode modular outros mecanismos envolvidos na caquexia, incluindo aumento dos níveis de ROS e à falha dos sistemas antioxidantes que operam nas células musculares.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

1. Objetivo Geral

Avaliar alterações proteômicas em tumores colorretais de pacientes sem caquexia e com caquexia e identificar proteínas e vias de sinalização relevantes que possam contribuir para o gatilho e progressão da caquexia

2. Objetivos específicos

⇒ Caracterizar o proteoma dos tumores de pacientes com caquexia e respectivos controles, de peso estável e identificar proteínas e vias alteradas;

⇒ Validar as proteínas alteradas segundo a análise proteômica por ensaios de biologia molecular;

⇒ Sugerir proteínas e vias de sinalizações como alvos de diagnóstico.

Referências Bibliográficas

1. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- ÁBRIGO, J. et al. Role of Oxidative Stress as Key Regulator of Muscle Wasting during Cachexia. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2018, p. 2063179, 2018a.
- ÁBRIGO, J. et al. TGF- β requires the activation of canonical and non-canonical signalling pathways to induce skeletal muscle atrophy. **Biological Chemistry**, v. 399, n. 3, p. 253–264, 2018b.
- AHMED, S. et al. The TGF- β /Smad4 Signaling Pathway in Pancreatic Carcinogenesis and Its Clinical Significance. **Journal of Clinical Medicine**, v. 6, n. 1, p. 5, 2017.
- AL TAMEEMI, W. et al. Hypoxia-Modified Cancer Cell Metabolism. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 7, n. January, p. 1–15, 2019.
- ALVES, M. J. et al. Adipose tissue fibrosis in human cancer cachexia: The role of TGF β pathway. **BMC Cancer**, v. 17, n. 1, p. 1–12, 2017a.
- ALVES, M. J. et al. Adipose tissue fibrosis in human cancer cachexia: The role of TGF β pathway. **BMC Cancer**, v. 17, n. 1, 2017b.
- AOYAGI, T. et al. Cancer cachexia, mechanism and treatment. **World Journal of Gastrointestinal Oncology**, v. 7, n. 4, p. 17, 2015.
- ARCUCCI, A. et al. Cancer: An Oxidative Crosstalk between Solid Tumor Cells and Cancer Associated Fibroblasts. **BioMed Research International**, v. 2016, 2016.
- ARGILÉS, J. M. et al. The role of cytokines in cancer cachexia. **Current Opinion in Supportive and Palliative Care**, v. 3, n. 4, p. 263–268, 2009.
- ARGILÉS, J. M. et al. Cancer cachexia: Understanding the molecular basis. **Nature Reviews Cancer**, v. 14, n. 11, p. 754–762, 2014.
- ARGILÉS, J. M. et al. Therapeutic strategies against cancer cachexia. **European Journal of Translational Myology**, v. 29, n. 1, p. 4–13, 2019.
- ARTHUR, S. T. et al. One-year prevalence, comorbidities and cost of cachexia-related inpatient admissions in the USA. **Drugs in Context**, v. 3, p. 1–11, 2014.
- AVAGLIANO, A. et al. Metabolic Reprogramming of Cancer Associated Fibroblasts : The Slavery of Stromal Fibroblasts. v. 2018, 2018.
- AZOITEI, N. et al. PKM2 promotes tumor angiogenesis by regulating HIF-1 α through NF- κ B activation. **Molecular Cancer**, v. 15, n. 1, p. 1–15, 2016.

BAGEGHNI, S. A. et al. Fibroblast-specific deletion of IL-1 receptor-1 reduces adverse cardiac remodeling following myocardial infarction. **JCI Insight**, v. 4, n. 17, p. 1–14, 2019.

BALANI, S.; NGUYEN, L. V.; EAVES, C. J. Modeling the process of human tumorigenesis. **Nature Communications**, v. 8, n. May, p. 1–10, 2017.

BARACOS, V. E.; MAZURAK, V. C.; BHULLAR, A. S. Cancer cachexia is defined by an ongoing loss of skeletal muscle mass. v. 8, n. 3, p. 3–12, 2019.

BARREIRO, E. et al. Both oxidative and nitrosative stress are associated with muscle wasting in tumour-bearing rats. **FEBS Letters**, v. 579, n. 7, p. 1646–1652, 2005.

BATISTA, M. L. et al. Adipose tissue inflammation and cancer cachexia: Possible role of nuclear transcription factors. **Cytokine**, v. 57, n. 1, p. 9–16, 2012.

BATLLE, R. et al. Regulation of tumor angiogenesis and mesenchymal–endothelial transition by p38 α through TGF- β and JNK signaling. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 1–18, 2019.

BEN-NOUN, L. The Disease That Caused Weight Loss in King David the Great. **The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 59, n. 2, p. M143–M145, 2004.

BHOGAL, A. S.; LORITE, M. L.; TISDALE, M. J. Changes in nucleic acid and protein levels in atrophying skeletal muscle in cancer cachexia. **Anticancer Research**, v. 26, n. 6 B, p. 4149–4154, 2006.

BING, C. et al. Zinc- α 2-glycoprotein: An adipokine modulator of body fat mass. **International Journal of Obesity**, v. 34, n. 11, p. 1559–1565, 2010.

BLUM, D. et al. Evolving classification systems for cancer cachexia: Ready for clinical practice? **Supportive Care in Cancer**, v. 18, n. 3, p. 273–279, 2010.

BOERSEMA, P. J. et al. Triplex protein quantification based on stable isotope labeling by peptide dimethylation applied to cell and tissue lysates. **Proteomics**, v. 8, n. 22, p. 4624–4632, 2008.

BOURDEL-MARCHASSON, I. et al. Nutritional advice in older patients at risk of malnutrition during treatment for chemotherapy: A two-year randomized controlled trial. **PLoS ONE**, v. 9, n. 9, 2014.

BOZZETTI, F.; MARIANI, L. Defining and classifying cancer cachexia: A proposal by the SCRINIO Working Group. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 33, n. 4, p. 361–367, 2009.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, maio 1976.

BRUERA, E. Anorexia , cachexia , and nutrition Does the patient have cachexia ? Why is the patient cachectic ? Which treatments are effective ? **Bmj**, p. 1219–1222, 1997.

CAMARGO, R. G. et al. Nf-kbp65 and expression of its pro-inflammatory target genes are upregulated in the subcutaneous adipose tissue of cachectic cancer patients. **Nutrients**, v. 7, n. 6, p. 4465–4479, 2015a.

CAMARGO, R. G. et al. Nf-kbp65 and expression of its pro-inflammatory target genes are upregulated in the subcutaneous adipose tissue of cachectic cancer patients. **Nutrients**, v. 7, n. 6, 2015b.

CARBAJO-PESCADOR, S. et al. Inhibition of VEGF expression through blockade of Hif1 α and STAT3 signalling mediates the anti-angiogenic effect of melatonin in HepG2 liver cancer cells. **British Journal of Cancer**, v. 109, n. 1,

p. 83–91, 2013.

CHAN, J. S. K. et al. Cancer-associated fibroblasts enact field cancerization by promoting extratumoral oxidative stress. **Cell Death and Disease**, v. 8, n. 1, p. 1–12, 2017.

CHANETON, B.; GOTTLIEB, E. Rocking cell metabolism: Revised functions of the key glycolytic regulator PKM2 in cancer. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 37, n. 8, p. 309–316, 2012.

CHAPNICK, D. A. et al. Partners in crime: The TGF β and MAPK pathways in cancer progression. **Cell and Bioscience**, v. 1, n. 1, p. 42, 2011.

CHEN, E. Y. et al. Enrichr: interactive and collaborative HTML5 gene list enrichment analysis tool. **BMC Bioinformatics**, v. 14, n. 1, p. 128, 2013.

CHERUKU, H. R. et al. Transforming growth factor- β , MAPK and Wnt signaling interactions in colorectal cancer. **EuPA Open Proteomics**, v. 8, p. 104–115, 2015.

COLEMAN, M. L.; RATCLIFFE, P. J. Angiogenesis: Escape from hypoxia. **Nature Medicine**, v. 15, n. 5, p. 491–493, 2009.

CRUZ, A. L. S. et al. Lipid droplets: platforms with multiple functions in cancer hallmarks. **Cell Death and Disease**, v. 11, n. 2, 2020.

CUEZVA, J. M. et al. The tumor suppressor function of mitochondria: Translation into the clinics. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**, v. 1792, n. 12, p. 1145–1158, 2009.

CUNHA, F. M. et al. Intracellular peptides as natural regulators of cell signaling. **Journal of Biological Chemistry**, v. 283, n. 36, p. 24448–24459, 2008.

CURY, S. S. et al. Tumor transcriptome reveals high expression of IL-8 in non-small cell lung cancer patients with low pectoralis muscle area and reduced survival. **Cancers**, v. 11, n. 9, 2019.

DASGUPTA, A. et al. Abstract LB-267: Metabolic alterations in tumors cause cachexia in pancreatic cancer. **Cancer Research**, v. 77, n. 13 Supplement, p. LB-267 LP-LB-267, jul. 2017.

DE CASTRO, G. S. et al. Human cachexia induces changes in mitochondria, autophagy and apoptosis in the skeletal muscle. **Cancers**, v. 11, n. 9, 2019.

DE MATOS-NETO, E. M. et al. Systemic inflammation in cachexia - Is tumor cytokine expression profile the culprit? **Frontiers in Immunology**, v. 6, n. DEC, 2015a.

DE MATOS-NETO, E. M. et al. Systemic Inflammation in Cachexia - Is Tumor Cytokine Expression Profile the Culprit? **Frontiers in immunology**, v. 6, p. 629, 2015b.

DE WAELE, E. et al. Nutrition therapy in cachectic cancer patients. The Tight Caloric Control (TiCaCo) pilot trial. **Appetite**, v. 91, p. 298–301, 2015.

DEJONG, C. H. C. et al. Systemic inflammation correlates with increased expression of skeletal muscle ubiquitin but not uncoupling proteins in cancer cachexia. **Oncology Reports**, v. 14, n. 1, p. 257–263, 2005.

DEKKER, E. et al. Colorectal cancer. **The Lancet**, v. 394, n. 10207, p. 1467–1480, 2019.

DOEHNER, W.; ANKER, S. D. Cardiac cachexia in early literature: A review of research prior to Medline. **International Journal of Cardiology**, v. 85, n. 1, p. 7–14, 2002.

DONOHUE, C. L.; RYAN, A. M.; REYNOLDS, J. V. Cancer Cachexia: Mechanisms and Clinical Implications. **Gastroenterology Research and Practice**, v. 2011, p. 1–13, 2011.

DUNNE, R. F. et al. Cachexia and sarcopenia in older adults with cancer: A comprehensive review. **Cancers**, v. 11, n. 12, p. 1–17, 2019.

ELEY, H. L.; TISDALE, M. J. Skeletal muscle atrophy, a link between depression of protein synthesis and increase in degradation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 10, p. 7087–7097, 2007.

EVANS, W. J. et al. Cachexia: A new definition. **Clinical Nutrition**, v. 27, n. 6, p. 793–799, 2008.

FALCONER, J. S. et al. Acute-phase protein response and survival duration of patients with pancreatic cancer. **Cancer**, v. 75, n. 8, p. 2077–2082, 1995.

FEARON, E. R. Molecular Genetics of Colorectal Cancer. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 6, n. 1, p. 479–507, 28 fev. 2011.

FEARON, E. R.; VOGELSTEIN, B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. **Cell**, v. 61, n. 5, p. 759–767, jun. 1990.

FEARON, K. et al. Definition and classification of cancer cachexia: An international consensus. **The Lancet Oncology**, v. 12, n. 5, p. 489–495, 2011.

FEARON, K. C.; VOSS, A. C.; HUSTEAD, D. S. Definition of cancer cachexia: Effect of weight loss, reduced food intake, and systemic inflammation on functional status and prognosis. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, n. 6, p. 1345–1350, 2006.

FIASCHI, T.; CHIARUGI, P. Oxidative stress, tumor microenvironment, and metabolic reprogramming: A diabolic liaison. **International Journal of Cell Biology**, v. 2012, 2012.

FOLKMAN, J. Anti-angiogenesis: new concept for therapy of solid tumors. **Annals of surgery**, v. 175, n. 3, p. 409–416, 1972.

FORSYTHE, J. O. A. et al. Activation of Vascular Endothelial Growth Factor Gene Transcription by Hypoxia-Inducible Factor 1. v. 16, n. 9, p. 4604–4613, 1996.

FOX, K. M. et al. Estimation of cachexia among cancer patients based on four definitions. **Journal of Oncology**, v. 2009, 2009.

FRANCESCHINI, A. et al. STRING v9.1: Protein-protein interaction networks, with increased coverage and integration. **Nucleic Acids Research**, v. 41, n. D1, p. 808–815, 2013.

GELIN, J. et al. Role of Endogenous Tumor Necrosis Factor α and Interleukin 1 for Experimental Tumor Growth and the Development of Cancer Cachexia. p. 415–421, 2014.

GHAFOORY, S. et al. Platelet TGF- β 1 deficiency decreases liver fibrosis in a mouse model of liver injury. **Blood advances**, v. 2, n. 5, p. 470–480, 2018.

GHANBARI MOVAHED, Z. et al. Cancer cells change their glucose metabolism to overcome increased ROS: One step from cancer cell to cancer stem cell? **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 112, n. December 2018, p. 108690, 2019.

GORDON, J. N.; GREEN, S. R.; GOGGIN, P. M. Cancer cachexia. **QJM - Monthly Journal of the Association of Physicians**, v. 98, n. 11, p. 779–788, 2005.

GRELET, S. et al. Pleiotropic roles of non-coding RNAs in TGF- β -mediated epithelial-mesenchymal transition and their functions in tumor progression. **Cancers**, v. 9, n. 7, p. 3–8, 2017.

GRIVENNIKOV, S. I.; GRETEN, F. R.; KARIN, M. Immunity, Inflammation, and Cancer. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 883–899, 2010.

HALING, J. R. et al. Mechanism of MEK inhibition determines efficacy in mutant

KRAS- versus BRAF-driven cancers. **Nature**, v. 501, n. 7466, p. 232–236, 2013.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. The Hallmarks of Cancer. **Cell**, v. 100, n. 1, p. 57–70, jan. 2000.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: The next generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646–674, 2011.

HARDEE, J. P.; MONTALVO, R. N.; CARSON, J. A. Linking cancer cachexia-induced anabolic resistance to skeletal muscle oxidative metabolism. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, 2017.

HE, W. A. et al. Microvesicles containing miRNAs promote muscle cell death in cancer cachexia via TLR7. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 12, p. 4525–4529, 2014.

HERTA, M. **Atemschaukel**. München: [s.n.].

HIX, L. M. et al. Tumor STAT1 transcription factor activity enhances breast tumor growth and immune suppression mediated by myeloid-derived suppressor cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 17, p. 11676–11688, 2013.

HOU, Y.-C. et al. Elevated Serum Interleukin-8 Level Correlates with Cancer-Related Cachexia and Sarcopenia: An Indicator for Pancreatic Cancer Outcomes. **Journal of Clinical Medicine**, v. 7, n. 12, p. 502, 2018.

JATOI, A. et al. A placebo-controlled, double-blind trial of infliximab for cancer-associated weight loss in elderly and/or poor performance non-small cell lung cancer patients (N01C9). **Lung Cancer**, v. 68, n. 2, p. 234–239, 13 maio 2010.

JING, X. et al. Role of hypoxia in cancer therapy by regulating the tumor microenvironment. **Molecular Cancer**, v. 18, n. 1, p. 1–15, 2019.

JUNG, Y. J. et al. IL-1beta-mediated up-regulation of HIF-1alpha via an NFkappaB/COX-2 pathway identifies HIF-1 as a critical link between inflammation and oncogenesis. **The FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 17, n. 14, p. 2115–2117, 2003.

KIM, J. -W. et al. Hypoxia-Inducible Factor 1 and Dysregulated c-Myc Cooperatively Induce Vascular Endothelial Growth Factor and Metabolic Switches Hexokinase 2 and Pyruvate Dehydrogenase Kinase 1. **Molecular and Cellular Biology**, v. 27, n. 21, p. 7381–7393, 2007.

KONG, X. et al. CD34 over-expression is associated with gliomas' higher WHO grade. **Medicine (United States)**, v. 95, n. 7, p. e2830, 2016.

KOUL, H. K.; PAL, M.; KOUL, S. Role of p38 MAP Kinase Signal Transduction in Solid Tumors. **Genes & cancer**, v. 4, n. 9–10, p. 342–59, set. 2013.

KULESHOV, M. V. et al. Enrichr: a comprehensive gene set enrichment analysis web server 2016 update. **Nucleic acids research**, v. 44, n. W1, p. W90–W97, 2016.

KUMARI, S. et al. Reactive Oxygen Species : A Key Constituent in Cancer Survival. 2018.

KUNG-CHUN CHIU, D. et al. Hypoxia regulates the mitochondrial activity of hepatocellular carcinoma cells through HIF/HEY1/PINK1 pathway. **Cell Death and Disease**, v. 10, n. 12, 2019.

KUSMARTSEV, S.; GABRILOVICH, D. I. STAT1 Signaling Regulates Tumor-Associated Macrophage-Mediated T Cell Deletion. **The Journal of Immunology**, v. 174, n. 8, p. 4880–4891, 2005.

KYRIAKIDES, T. R. et al. Regulation of angiogenesis and matrix remodeling by

localized, matrix-mediated antisense gene delivery. **Molecular Therapy**, v. 3, n. 6, p. 842–849, 2001.

LAMBERT, A. W.; PATTABIRAMAN, D. R.; WEINBERG, R. A. Review Emerging Biological Principles of Metastasis. **Cell**, v. 168, n. 4, p. 670–691, 2016.

LANE, D. et al. Prognostic significance of IL-6 and IL-8 ascites levels in ovarian cancer patients. **BMC Cancer**, v. 11, n. 1, p. 210, 2011.

LAVIANO, A. et al. Oxidative stress and wasting in cancer. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 10, n. 4, p. 449–456, 2007.

LAVIANO, A.; KOVERECH, A.; MARI, A. Cachexia: Clinical features when inflammation drives malnutrition. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 74, n. 4, p. 348–354, 2015.

LAVIANO, A.; PALDINO, A. Diagnosing cachexia. **Clinical Practice**, v. 11, n. 1, p. 71–78, 2014.

LEE, E.; LEE, D. H. Emerging roles of protein disulfide isomerase in cancer. **BMB Reports**, v. 50, n. 8, p. 401–410, 2017.

LI, Y. et al. Skeletal muscle myocytes undergo protein loss and reactive oxygen-mediated NF- κ B activation in response to tumor necrosis factor α . **The FASEB Journal**, v. 12, n. 10, p. 871–880, 1998.

LIMA, J. D. C. C. et al. Tumour-derived transforming growth factor- β signalling contributes to fibrosis in patients with cancer cachexia. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, v. 10, n. 5, 2019a.

LIMA, J. D. C. C. et al. Tumour-derived transforming growth factor- β signalling contributes to fibrosis in patients with cancer cachexia. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, v. 55, n. April, 2019b.

LIN, G. G.; SCOTT, J. G. Tumor-derived PTHrP Triggers Adipose Tissue Browning and Cancer Cachexia. **Nature**, v. 100, n. 2, p. 130–134, 2012.

LIU, G.-Y.; STORZ, P. Reactive oxygen species in cancer. **Free Radical Research**, v. 44, n. 5, p. 479–496, 7 jan. 2010.

LIRA, F. S. et al. Exercise training decreases adipose tissue inflammation in cachectic rats. **Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme**, v. 44, n. 2, p. 91–8, fev. 2012.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402–408, 2001.

LOH et al. The E-Cadherin and N-Cadherin Switch in Epithelial-to-Mesenchymal Transition: Signaling, Therapeutic Implications, and Challenges. **Cells**, v. 8, n. 10, p. 1118, 20 set. 2019.

LONG, X. et al. IL-8, a novel messenger to cross-link inflammation and tumor EMT via autocrine and paracrine pathways (Review). **International Journal of Oncology**, v. 48, n. 1, p. 5–12, 2016.

LUO, W. et al. Pyruvate Kinase M2 Is a PHD3-Stimulated Coactivator for Hypoxia-Inducible Factor 1. **Cell**, v. 145, n. 5, p. 732–744, maio 2011.

LUO, W.; SEMENZA, G. L. Emerging roles of PKM2 in cell metabolism and cancer progression. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 23, n. 11, p. 560–566, nov. 2012.

M.J., T. Are tumoral factors responsible for host tissue wasting in cancer cachexia? **Future Oncology**, v. 6, n. 4, p. 503–513, 2010.

MACDONALD, N. et al. Understanding and managing cancer cachexia.

Journal of the American College of Surgeons, v. 197, n. 1, p. 143–161, 2003.

MADDOCKS, M. et al. Practical multimodal care for cancer cachexia. **Current Opinion in Supportive and Palliative Care**, v. 10, n. 4, p. 298–305, 2016.

MAJCHRZAK, K. et al. Markers of angiogenesis (CD31, CD34, rCBV) and their prognostic value in low-grade gliomas. **Neurologia i Neurochirurgia Polska**, v. 47, n. 4, p. 325–331, 2013.

MANOUSOPOULOU, A. et al. Quantitative proteomic profiling of primary cancer-associated fibroblasts in oesophageal adenocarcinoma. **British Journal of Cancer**, v. 118, n. 9, p. 1200–1207, 2018.

MANTOVANI, G. et al. Serum levels of leptin and proinflammatory cytokines in patients with advanced-stage cancer at different sites. **Journal of Molecular Medicine**, v. 78, n. 10, p. 554–561, 2000.

MANTOVANI, G. et al. Antioxidant agents are effective in inducing lymphocyte progression through cell cycle in advanced cancer patients: Assessment of the most important laboratory indexes of cachexia and oxidative stress. **Journal of Molecular Medicine**, v. 81, n. 10, p. 664–673, 2003.

MANTOVANI, G.; MADEDDU, C. Proinflammatory Cytokines: Their Role in Multifactorial Cancer Cachexia. In: **Cachexia and Wasting: A Modern Approach**. [s.l.: s.n.]. p. 477–482.

MAXWELL, P. H.; RATCLIFFE, P. J. Oxygen sensors and angiogenesis. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 13, n. 1, p. 29–37, 2002.

MCMILLAN, D. C. Systemic inflammation, nutritional status and survival in patients with cancer. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 12, n. 3, p. 223–226, 2009.

MCMILLAN, D. C. Cancer and systemic inflammation: Stage the tumour and stage the host. **British Journal of Cancer**, v. 109, n. 3, p. 529, 2013.

MCSORLEY, S. T. et al. The relationship between tumour stage, systemic inflammation, body composition and survival in patients with colorectal cancer. **Clinical Nutrition**, v. 37, n. 4, p. 1279–1285, 2018.

MEISSL, K. et al. The good and the bad faces of STAT1 in solid tumours. **Cytokine**, v. 89, p. 12–20, 2017.

MELCHOR, S. J. et al. **Cachexia and fibrosis are costs of chronic IL-1R-mediated disease tolerance in**. [s.l.: s.n.].

MILLER, A. et al. Blockade of the IL-6 trans-signalling/STAT3 axis suppresses cachexia in Kras-induced lung adenocarcinoma. **Oncogene**, v. 36, n. 21, p. 3059–3066, 2017.

MOHR, T. et al. Proteome profiling in IL-1 β and VEGF-activated human umbilical vein endothelial cells delineates the interlink between inflammation and angiogenesis. **PLoS ONE**, v. 12, n. 6, p. 1–23, 2017.

MORLEY, J. E.; THOMAS, D. R.; WILSON, M. G. Review Article. 2006.

MUSCARITOLI, M. et al. Consensus definition of sarcopenia, cachexia and pre-cachexia: Joint document elaborated by Special Interest Groups (SIG) “cachexia-anorexia in chronic wasting diseases” and “nutrition in geriatrics”. **Clinical Nutrition**, v. 29, n. 2, p. 154–159, 2010.

NETO, N. I. P. et al. Peritumoural adipose tissue pro-inflammatory cytokines are associated with tumoural growth factors in cancer cachexia patients. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, v. 9, n. 6, p. 1101–1108, 2018.

NEVEU, B. et al. IL-8 secretion in primary cultures of prostate cells is associated with prostate cancer aggressiveness. **Research and reports in**

urology, v. 6, p. 27–34, 2014.

NISSEN, N. I.; KARSDAL, M.; WILLUMSEN, N. Collagens and Cancer associated fibroblasts in the reactive stroma and its relation to Cancer biology. **Journal of Experimental and Clinical Cancer Research**, v. 38, n. 1, p. 1–12, 2019.

NOGUCHI, Y. et al. Are Cytokines Possible Mediators of Cancer Cachexia?

Surgery Today, v. 26, n. 7, p. 467–475, 1996.

O. WARBURG. On the origin of cancer cells. **Science**, v. 123, n. 3191, p. 309–314, 1956.

ORUQAJ, G. et al. Compromised peroxisomes in idiopathic pulmonary fibrosis, a vicious cycle inducing a higher fibrotic response via TGF- β signaling.

Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 112, n. 16, p. E2048–E2057, 2015.

PAPAGEORGIS, P. TGF β signaling in tumor initiation, epithelial-to-mesenchymal transition, and metastasis. **Journal of Oncology**, v. 2015, 2015.

PAPAGEORGIS, P.; STYLIANOPOULOS, T. Role of TGF β in regulation of the tumor microenvironment and drug delivery (review). **International Journal of Oncology**, v. 46, n. 3, p. 933–943, 2015.

PARK, M. J. et al. IL-1-IL-17 signaling axis contributes to fibrosis and inflammation in two different murine models of systemic sclerosis. **Frontiers in Immunology**, v. 9, n. JUL, p. 1–12, 2018.

PASTOREKOVA, S.; GILLIES, R. J. The role of carbonic anhydrase IX in cancer development: links to hypoxia, acidosis, and beyond. **Cancer and Metastasis Reviews**, v. 38, n. 1–2, p. 65–77, 2019.

PAVLIDES, S. et al. The reverse Warburg effect: Aerobic glycolysis in cancer associated fibroblasts and the tumor stroma. **Cell Cycle**, v. 8, n. 23, p. 3984–4001, 2009.

PAVLIDES, S. et al. Loss of stromal caveolin-1 leads to oxidative stress, mimics hypoxia and drives inflammation in the tumor microenvironment, conferring the “reverse Warburg effect”: A transcriptional informatics analysis with validation.

Cell Cycle, v. 9, n. 11, p. 2201–2219, 2010.

PETANIDIS, S. et al. In vitro and ex vivo vanadium antitumor activity in (TGF- β)-induced EMT. Synergistic activity with carboplatin and correlation with tumor metastasis in cancer patients. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 74, p. 121–134, 2016.

PETRUZZELLI, M. et al. A switch from white to brown fat increases energy expenditure in cancer-associated cachexia. **Cell Metabolism**, v. 20, n. 3, p. 433–447, 2014.

PETRUZZELLI, M.; WAGNER, E. F. Mechanisms of metabolic dysfunction in cancer-associated cachexia. **Genes and Development**, v. 30, n. 5, p. 489–501, 2016.

POEHLMAN, E. T. et al. Increased resting metabolic rate in patients with congestive heart failure. **Annals of Internal Medicine**, v. 121, n. 11, p. 860–862, 1994.

PORPORATO, P. E. Understanding cachexia as a cancer metabolism syndrome. **Oncogenesis**, v. 5, n. 2, p. e200-10, 2016.

PUGH, C. W.; RATCLIFFE, P. J. Regulation of angiogenesis by hypoxia: Role of the HIF system. **Nature Medicine**, v. 9, n. 6, p. 677–684, 2003.

QIAN, B.-Z.; POLLARD, J. W. Macrophage Diversity Enhances Tumor Progression and Metastasis. **Cell**, v. 141, n. 1, p. 39–51, abr. 2010.

QUINTERO-FABIÁN, S. et al. Role of Matrix Metalloproteinases in Angiogenesis and Cancer. **Frontiers in Oncology**, v. 9, n. December, p. 1–21, 2019.

RAVASCO, P. Nutritional approaches in cancer: Relevance of individualized counseling and supplementation. **Nutrition**, v. 31, n. 4, p. 603–604, 2015.

RAWLA, P.; SUNKARA, T.; BARSOUK, A. Epidemiology of colorectal cancer: Incidence, mortality, survival, and risk factors. **Przegląd Gastroenterologiczny**, v. 14, n. 2, p. 89–103, 2019.

RICCARDI, D. M. D. R. et al. Plasma Lipid Profile and Systemic Inflammation in Patients With Cancer Cachexia. **Frontiers in Nutrition**, v. 7, 2020.

ROCHE, J. The epithelial-to-mesenchymal transition in cancer. **Cancers**, v. 10, n. 2, p. 10–13, 2018.

RØSLAND, G. V et al. Epithelial to mesenchymal transition (EMT) is associated with attenuation of succinate dehydrogenase (SDH) in breast cancer through reduced expression of SDHC. p. 1–18, 2019.

RUSSELL, S. T.; TISDALE, M. J. Mechanism of attenuation of skeletal muscle atrophy by zinc- α 2-glycoprotein. **Endocrinology**, v. 151, n. 10, p. 4696–4704, 2010.

SÁNCHEZ-CENIZO, L. et al. Up-regulation of the ATPase Inhibitory Factor 1 (IF1) of the mitochondrial H⁺-ATP synthase in human tumors mediates the metabolic shift of cancer cells to a warburg phenotype. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 33, p. 25308–25313, 2010.

SANDBERG, T. P. et al. Erratum: Molecular profiling of colorectal tumors stratified by the histological tumor-stroma ratio - Increased expression of galectin-1 in tumors with high stromal content (Oncotarget (2018) 9 (31502-31515) DOI: 10.18632/oncotarget.25845). **Oncotarget**, v. 10, n. 24, p. 2416, 2019.

SCHÖDEL, J.; RATCLIFFE, P. J. Mechanisms of hypoxia signalling: new implications for nephrology. 2019.

SEELAENDER, M. et al. Inflammation in Cachexia. **Mediators of Inflammation**, v. 2015, 2015.

SEMENZA, G. L. HIF-1 mediates metabolic responses to intratumoral hypoxia and oncogenic mutations Find the latest version : Review series HIF-1 mediates metabolic responses to intratumoral hypoxia and oncogenic mutations. **Journal of Clinical Investigation**, v. 123, n. 9, p. 3664–3671, 2013.

SESTERHENN, A. et al. Stellenwert der Autopsie bei Patienten mit Kopf-Halstumoren. **Laryngo-Rhino-Otologie**, v. 91, n. 06, p. 375–380, jun. 2012.

SKIPWORTH, R. J. E. et al. Pathophysiology of cancer cachexia: Much more than host-tumour interaction? **Clinical Nutrition**, v. 26, n. 6, p. 667–676, 2007.

SMITH, K. L.; TISDALE, M. J. Increased protein degradation and decreased protein synthesis in skeletal muscle during cancer cachexia. v. 02, n. August 1992, p. 680–685, 1993.

SOMERVILLE, C.; KOORNNEEF, M. A fortunate choice: The history of Arabidopsis as a model plant. **Nature Reviews Genetics**, v. 3, n. 11, p. 883–889, 2002.

STRASSMANN, G. et al. Evidence for the involvement of interleukin 6 in experimental cancer cachexia. **Journal of Clinical Investigation**, v. 89, n. 5, p. 1681–1684, 1992.

SUN, L. et al. Alpha-enolase promotes gastric cancer cell proliferation and metastasis via regulating AKT signaling pathway. **European Journal of**

Pharmacology, v. 845, p. 8–15, 2019.

SUN, L.; QUAN, X. Q.; YU, S. An Epidemiological Survey of Cachexia in Advanced Cancer Patients and Analysis on Its Diagnostic and Treatment Status. **Nutrition and Cancer**, v. 67, n. 7, p. 1056–1062, 2015.

TAFANI, M. et al. The Interplay of Reactive Oxygen Species, Hypoxia, Inflammation, and Sirtuins in Cancer Initiation and Progression. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, 2016.

TANG, Y. A. et al. Hypoxic tumor microenvironment activates GLI2 via HIF-1 α and TGF- β 2 to promote chemoresistance in colorectal cancer. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 115, n. 26, p. E5990–E5999, 2018.

TAURIELLO, D. V. F. et al. TGF β drives immune evasion in genetically reconstituted colon cancer metastasis. **Nature**, v. 554, n. 7693, p. 538–543, 2018.

TAURIELLO, D. V. F.; BATLLE, E. Targeting the Microenvironment in Advanced Colorectal Cancer. **Trends in Cancer**, v. 2, n. 9, p. 495–504, 2016.

THIERY, J. P. Epithelial-mesenchymal transitions in development and pathologies. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 15, n. 6, p. 740–746, 2003.

THIERY, J. P. et al. Epithelial-Mesenchymal Transitions in Development and Disease. **Cell**, v. 139, n. 5, p. 871–890, 2009.

TISDALE, M. J. Biology of cachexia. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 89, n. 23, p. 1763–1773, 1997.

TISDALE, M. J. Mechanisms of cancer cachexia. **Physiological Reviews**, v. 89, n. 2, p. 381–410, 2009.

TODOROV, P. et al. Characterization of a cancer cachectic factor. **Nature**, v. 379, n. 6567, p. 739–742, 1996.

TOULLEC, A. et al. Oxidative stress promotes myofibroblast differentiation and tumour spreading. **EMBO Molecular Medicine**, v. 2, n. 6, p. 211–230, 2010.

VAKIL, R. J.; GOLWALA, A. F. Diseases of the heart in childhood. **The Antiseptic**, v. 48, n. 8, p. 580–591, 1951.

VANDER HEIDEN, M. G.; CANTLEY, L. C.; THOMPSON, C. B. Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation. **Science**, v. 324, n. 5930, p. 1029–1033, 22 maio 2009.

VANHOUTTE, G. et al. Cachexia in cancer: what is in the definition? **BMJ Open Gastroenterology**, v. 3, n. 1, p. 1–11, 2016.

VON HAEHLING, S.; ANKER, S. D. Prevalence, incidence and clinical impact of cachexia: facts and numbers—update 2014. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, v. 5, n. 4, p. 261–263, 2014.

VORONOV, E. et al. IL-1 is required for tumor invasiveness and angiogenesis. 2002.

W, S. I. et al. Metabolic Interplay between Tumour Cells and Cancer-Associated Fibroblasts (CAFs) under Hypoxia versus Normoxia. v. 25, n. 3, p. 7–16, 2018.

WANG, M. et al. Role of tumor microenvironment in tumorigenesis. **Journal of Cancer**, v. 8, n. 5, p. 761–773, 2017.

WEINBERG, F.; RAMNATH, N.; NAGRATH, D. Reactive Oxygen Species in the Tumor Microenvironment: An Overview. **Cancers**, v. 11, n. 8, p. 1191, 16 ago. 2019.

WYCKOFF, J. et al. A paracrine loop between tumor cells and macrophages is required for tumor cell migration in mammary tumors. **Cancer Research**, v. 64, n. 19, p. 7022–7029, 2004.

YAZDANI, S.; BANSAL, R.; PRAKASH, J. Drug targeting to myofibroblasts: Implications for fibrosis and cancer. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 121, p. 101–116, 2017.

YOUNES, R. N.; NOGUCHI, Y. Pathophysiology of cancer cachexia. **Revista do Hospital das Clínicas**, v. 55, n. 5, p. 181–193, 2000.

YOUNG-HEE, L. et al. Oxidative stress resistance through blocking Hsp60 translocation followed by SAPK/JNK inhibition in aged human diploid fibroblast. **Cell biochemistry and function**, v. 26, n. April 2007, p. 320–328, 2008.

ZHANG, G. et al. Tumor induces muscle wasting in mice through releasing extracellular Hsp70 and Hsp90. **Nature Communications**, v. 8, n. 1, 2017.

ZHAO, Z. et al. Epithelial-mesenchymal transition in cancer : Role of the IL-8 / IL-8R axis (Review). n. 6, p. 4577–4584, 2017.

ZODE, G. S. et al. Transforming growth factor- β 2 increases extracellular matrix proteins in optic nerve head cells via activation of the Smad signaling pathway. **Molecular vision**, v. 17, n. June, p. 1745–58, 2011.

ZONNEVILLE, J. et al. TGF- β signaling promotes tumor vasculature by enhancing the pericyte-endothelium association. **BMC Cancer**, v. 18, n. 1, p. 1–13, 2018.