

**MICHELE JOANA ALVES**

**CAQUEXIA ASSOCIADA AO CÂNCER: A CONTRIBUIÇÃO DA VIA  
DE SINALIZAÇÃO DO TGF $\beta$  NA FIBROSE DO TECIDO ADIPOSEO**

Tese apresentada ao Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Biologia Celular e Tecidual

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Marília Cerqueira Leite Seelaender

Versão corrigida. A versão original eletrônica encontra-se disponível, tanto na Biblioteca do ICB, quanto na Biblioteca Digital de Dissertações e Teses da USP (BDTD).

São Paulo  
2016

## RESUMO

ALVES, M. J. **CAQUEXIA ASSOCIADA AO CÂNCER: A CONTRIBUIÇÃO DA VIA DE SINALIZAÇÃO DO TGF $\beta$  NA FIBROSE DO TECIDO ADIPOSEO**. 2016. 123 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Tecidual) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

A caquexia associada ao câncer é uma síndrome multifatorial e irreversível. Considerada um marcador, a profunda perda do tecido adiposo reflete alterações morfológicas e moleculares da matriz extracelular (MEC). A composição da MEC é crucial para a biologia do microambiente tecidual; no entanto, a caquexia pode induzir o descontrolado rearranjo tecidual e resultar em fibrose. O TGF $\beta$  é uma citocina chave envolvida nesse processo. O objetivo do estudo foi investigar o remodelamento tecidual e fatores modulados pela via do TGF $\beta$  no tecido adiposo subcutâneo na vigência da caquexia associada ao câncer gastrointestinal. O estudo incluiu 59 pacientes divididos em três grupos: Controle, Câncer com peso estável (WSC), e Câncer e Caquexia (CC). Foram observadas alterações morfológicas exclusivas ao tecido adiposo do grupo CC (HE) que incluíram a diminuição das células adiposas (área, diâmetro e perímetro). Houve o aumento na deposição de colágeno, glicoproteínas associadas e fibras do sistema elástico, detectados por colorações específicas. Já a imunohistoquímica revelou alterações no conteúdo dos colágenos do tipo I, III e VI, e da fibronectina, no grupo CC em relação ao grupo Controle e WSC. A presença de miofibroblastos no grupo CC foi confirmada pela imunomarcagem para  $\alpha$ SMA, e o aumento de 20 vezes da expressão gênica da FSP1 no tecido adiposo, em associação com expressiva marcação de vimentina em fibroblastos isolados do mesmo grupo. A concentração de TGF $\beta$ 3 foi superior no tecido adiposo no grupo CC, enquanto que nos adipócitos, a expressão de TGF $\beta$ 1 e TGF $\beta$ 3 foi maior nos pacientes caquéticos, em relação ao grupo Controle. Evidenciou-se forte marcação do TGF $\beta$ 1 por imunohistoquímica somente no grupo CC. Os níveis de RNAm das SMADs 2, 3 não foram modulados pela caquexia, apenas o RNAm da SMAD4 foi maior no grupo CC. Contudo, a imunolocalização revelou maior intensidade para SMAD3 e SMAD4 no grupo CC. Adicionalmente, no grupo CC, a expressão dos genes foi 30 vezes maior para o c-Myc, e 4 vezes para ciclina D1, ambos em relação ao grupo Controle. Em conclusão, na caquexia

associada ao câncer, a via do TGF $\beta$  contribui para o comprometimento da biologia do tecido adiposo e o desenvolvimento da fibrose.

Palavras-chave: Caquexia associada ao câncer. Tecido adiposo. Matriz extracelular. Fibrose. TGF $\beta$ .

## ABSTRACT

ALVES, M. J. **CANCER CACHEXIA: TGF $\beta$  PATHWAY CONTRIBUTION IN ADIPOSE TISSUE FIBROSIS**. 2016. 123 p. Ph.D Thesis (Cellular and Tissue Biology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Cancer cachexia is an irreversible multifactorial syndrome, in which there is a marked loss of adipose tissue which is mirrored by morphological, and molecular extracellular matrix (ECM) alterations. ECM composition is crucial for tissue biology however, cancer cachexia may induce uncontrolled tissue remodelling and result in fibrosis. TGF $\beta$  is a key cytokine in this process. The aim of the study was to investigate tissue remodelling and factors modulated by the TGF $\beta$  pathway in the subcutaneous adipose tissue of cachectic gastrointestinal cancer patients. The study included 59 patients enrolled into three groups: Control, Weight-stable Cancer (WSC) and Cancer Cachexia (CC). Morphological alterations (HE) were observed in the adipose tissue of CC solely, with reduction in the content of fat cells (area, diameter and circumference). There was an increase in the depositing collagen, glycoproteins, and fibers of the elastic system, detected by specific staining in CC. Markedly stain to collagens type I, III, IV and fibronectin by immunohistochemistry revealed changes in the CC group as compared to the control and WSC. Presence of myofibroblasts in CC was observed by immunostaining for  $\alpha$ SMA, and a 20-fold increase of the FSP1 gene expression in the adipose tissue. Along with enhanced immunolabelling for vimentin in isolated fibroblasts. TGF $\beta$ 3 concentration was higher in the adipose tissue of CC, while in the adipocytes higher TGF $\beta$ 1 and TGF $\beta$ 3 levels were found in the cachectic patients in relation to control group. Moreover, evidence of stronger labelling for TGF $\beta$ 1 was observed for CC. mRNA levels of SMADs 2, 3 no showed modulation by cancer cachexia, only in regard to SMAD4 expression. However, immunolocalization revealed greater intensity for SMAD3 and SMAD4 in CC. Additionally, gene expression was higher 30-fold in c-Myc, and 4-fold cyclin D1, for C, in relation to the control group. Thus, during cancer cachexia the TGF $\beta$  pathway contributes to disruption of adipose tissue biology and fibrosis development.

Keywords: Cancer cachexia. Adipose tissue. Extracellular matrix. Fibrosis. TGF $\beta$ .

## 1 INTRODUÇÃO

A origem da palavra caquexia deriva do termo grego “kakoshexis”, o qual significa literalmente má condição (Argilés et al., 2003). A imagem de indivíduo caquético ou em má condição é muito característica e facilmente distinguida por ser a confirmação visual dos piores medos do próprio indivíduo, de que a doença está piorando e provavelmente não haverá melhoras (Lok, 2015).

A caquexia é uma manifestação comum presente no avanço de diversas doenças crônicas, especialmente em pacientes em fase terminal (Argilés et al., 2014). É uma desordem metabólica que afeta cerca de 09 milhões de pessoas no mundo inteiro, e aproximadamente 80% da população com câncer avançado, não existindo um tratamento efetivo até o momento que reverta completamente à síndrome (Lok, 2015).

A profunda modificação na biologia do tecido adiposo tem sido considerada um importante marcador para síndrome (Bing et al., 2006). O tecido adiposo é considerado um importante órgão endócrino e pleiotrópico por ser capaz de sintetizar mais de cem fatores conhecidos, além de atuar na modulação de importantes processos, tais como: proliferação, inflamação, metabolismo, entre outros (Kwok et al., 2016).

Nosso grupo de pesquisas demonstrou recentemente que o tecido adiposo possui alterações morfológicas na caquexia associada ao câncer, com maior recrutamento de células inflamatórias (Batista et al., 2016). No entanto, alterações morfológicas levam ao remodelamento, e a deposição de matriz extracelular, são principalmente mediadas pelos fibroblastos, e em especial o TGF $\beta$ . A via de sinalização desencadeada pela ativação do TGF $\beta$  está associada ao desenvolvimento da fibrose tecidual.

O presente trabalho aborda sobre as características do remodelamento do tecido adiposo na caquexia associada ao câncer, bem como, a presença de fibrose, e a contribuição da via de sinalização do TGF $\beta$  através das SMADs.

## **CONCLUSÃO**

O tecido adiposo subcutâneo de pacientes com caquexia associada ao câncer gastrointestinal é acometido pelo remodelamento tecidual, e este é exclusivo à caquexia. A via de sinalização do TGF $\beta$  atua como contribuinte no desenvolvimento da fibrose nesse contexto.

## REFERÊNCIAS\*

AAHLIN, E. K. et al. Health-Related Quality of Life, Cachexia and Overall Survival After Major Upper Abdominal Surgery: A Prospective Cohort Study. **Scand J Surg**, Apr 2016. ISSN 1799-7267. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27114108> >.

ALVES, M. J. **Effects of cancer cachexia on the components of adipose tissue extracellular matrix**. 2011. 72 (Master Thesis). Cell and Tissue Biology, University of Sao Paulo, Institute of Biomedical Sciences.

ARGILÉS, J. M.; BUSQUETS, S.; LÓPEZ-SORIANO, F. J. Cytokines in the pathogenesis of cancer cachexia. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 6, n. 4, p. 401-6, Jul 2003. ISSN 1363-1950. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12806213> >.

ARGILÉS, J. M. et al. Cancer cachexia: understanding the molecular basis. **Nat Rev Cancer**, v. 14, n. 11, p. 754-62, Nov 2014. ISSN 1474-1768. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25291291> >.

\_\_\_\_\_. The role of cytokines in cancer cachexia. **Curr Opin Support Palliat Care**, v. 3, n. 4, p. 263-8, Dec 2009. ISSN 1751-4266. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19713854> >.

ARGILÉS, J. M.; LÓPEZ-SORIANO, F. J. The role of cytokines in cancer cachexia. **Med Res Rev**, v. 19, n. 3, p. 223-48, May 1999. ISSN 0198-6325. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10232651> >.

ARGILÉS, J. M. et al. Cross-talk between skeletal muscle and adipose tissue: a link with obesity? **Med Res Rev**, v. 25, n. 1, p. 49-65, Jan 2005. ISSN 0198-6325. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15389734> >.

\_\_\_\_\_. Optimal management of cancer anorexia-cachexia syndrome. **Cancer Manag Res**, v. 2, p. 27-38, 2010. ISSN 1179-1322. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21188094> >.

BATISTA, M. L. et al. Cachexia-associated adipose tissue morphological rearrangement in gastrointestinal cancer patients. **J Cachexia Sarcopenia Muscle**, v. 7, n. 1, p. 37-47, Mar 2016. ISSN 2190-5991. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27066317> >.

\*De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

\_\_\_\_\_. Heterogeneous time-dependent response of adipose tissue during the development of cancer cachexia. **J Endocrinol**, v. 215, n. 3, p. 363-73, Dec 2012. ISSN 1479-6805. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23033362> >.

\_\_\_\_\_. Adipose tissue-derived factors as potential biomarkers in cachectic cancer patients. **Cytokine**, v. 61, n. 2, p. 532-9, Feb 2013. ISSN 1096-0023. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23200412> >.

\_\_\_\_\_. Adipose tissue inflammation and cancer cachexia: possible role of nuclear transcription factors. **Cytokine**, v. 57, n. 1, p. 9-16, Jan 2012. ISSN 1096-0023. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22099872> >.

BEAUDOIN, M. S. et al. Novel effects of rosiglitazone on SMAD2 and SMAD3 signaling in white adipose tissue of diabetic rats. **Obesity (Silver Spring)**, v. 22, n. 7, p. 1632-42, Jul 2014. ISSN 1930-739X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24500776> >.

BENNANI-BAITI, N.; WALSH, D. What is cancer anorexia-cachexia syndrome? A historical perspective. **J R Coll Physicians Edinb**, v. 39, n. 3, p. 257-62, Sep 2009. ISSN 1478-2715. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20608345> >.

BERTEVELLO, P. S.; SEELAENDER, M. C. Heterogeneous response of adipose tissue to cancer cachexia. **Braz J Med Biol Res**, v. 34, n. 9, p. 1161-7, Sep 2001. ISSN 0100-879X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11514840> >.

BING, C. Lipid mobilization in cachexia: mechanisms and mediators. **Curr Opin Support Palliat Care**, v. 5, n. 4, p. 356-60, Dec 2011. ISSN 1751-4266. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21934502> >.

BING, C. et al. Adipose atrophy in cancer cachexia: morphologic and molecular analysis of adipose tissue in tumour-bearing mice. **Br J Cancer**, v. 95, n. 8, p. 1028-37, Oct 2006. ISSN 0007-0920. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17047651> >.

BING, C.; TRAYHURN, P. New insights into adipose tissue atrophy in cancer cachexia. **Proc Nutr Soc**, v. 68, n. 4, p. 385-92, Nov 2009. ISSN 1475-2719. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19719894> >.

BONNANS, C.; CHOU, J.; WERB, Z. Remodelling the extracellular matrix in development and disease. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 15, n. 12, p. 786-801, Dec 2014. ISSN 1471-0080. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25415508> >.



BRUERA, E.; SWEENEY, C. Cachexia and asthenia in cancer patients. **Lancet Oncol**, v. 1, p. 138-47, Nov 2000. ISSN 1470-2045. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11905651> >.

CAMARGO, R. G. et al. NF- $\kappa$ Bp65 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. 4465-79, Jun 2015. ISSN 2072-6643. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26053616> >.

CHEN, J. L. et al. Elevated expression of activins promotes muscle wasting and cachexia. **FASEB J**, v. 28, n. 4, p. 1711-23, Apr 2014. ISSN 1530-6860. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24378873> >.

DAHLMAN, I. et al. Adipose tissue pathways involved in weight loss of cancer cachexia. **Br J Cancer**, v. 102, n. 10, p. 1541-8, May 2010. ISSN 1532-1827. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20407445> >.

DANG, C. V. et al. Function of the c-Myc oncogenic transcription factor. **Exp Cell Res**, v. 253, n. 1, p. 63-77, Nov 1999. ISSN 0014-4827. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10579912> >.

DEWYS, W. D. et al. Prognostic effect of weight loss prior to chemotherapy in cancer patients. Eastern Cooperative Oncology Group. **Am J Med**, v. 69, n. 4, p. 491-7, Oct 1980. ISSN 0002-9343. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7424938> >.

DIVOUX, A.; CLÉMENT, K. Architecture and the extracellular matrix: the still unappreciated components of the adipose tissue. **Obes Rev**, v. 12, n. 5, p. e494-503, May 2011. ISSN 1467-789X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21366833> >.

EBADI, M.; MAZURAK, V. C. Potential Biomarkers of Fat Loss as a Feature of Cancer Cachexia. **Mediators Inflamm**, v. 2015, p. 820934, 2015. ISSN 1466-1861. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26508820> >.

EVANS, W. J. et al. Cachexia: a new definition. **Clin Nutr**, v. 27, n. 6, p. 793-9, Dec 2008. ISSN 1532-1983. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18718696> >.

FAIN, J. N.; TICHANSKY, D. S.; MADAN, A. K. Transforming growth factor beta1 release by human adipose tissue is enhanced in obesity. **Metabolism**, v. 54, n. 11, p. 1546-51, Nov 2005. ISSN 0026-0495. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16253647> >.

FEARON, K. et al. Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus. **Lancet Oncol**, v. 12, n. 5, p. 489-95, May 2011. ISSN 1474-5488. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21296615> >.

FEARON, K. C.; GLASS, D. J.; GUTTRIDGE, D. C. Cancer cachexia: mediators, signaling, and metabolic pathways. **Cell Metab**, v. 16, n. 2, p. 153-66, Aug 2012. ISSN 1932-7420. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22795476> >.

FLANDERS, K. C. Smad3 as a mediator of the fibrotic response. **Int J Exp Pathol**, v. 85, n. 2, p. 47-64, Apr 2004. ISSN 0959-9673. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15154911> >.

FRÜHBECK, G. et al. Regulation of adipocyte lipolysis. **Nutr Res Rev**, v. 27, n. 1, p. 63-93, Jun 2014. ISSN 1475-2700. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24872083> >.

GIOULBASANIS, I. et al. Baseline plasma levels of interleukin-8 in stage IV non-small-cell lung cancer patients: relationship with nutritional status and prognosis. **Nutr Cancer**, v. 64, n. 1, p. 41-7, 2012. ISSN 1532-7914. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22098075> >.

GLASS, D. J. Signaling pathways perturbing muscle mass. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 13, n. 3, p. 225-9, May 2010. ISSN 1473-6519. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20397318> >.

GULLETT, N. et al. Cancer-induced cachexia: a guide for the oncologist. **J Soc Integr Oncol**, v. 7, n. 4, p. 155-69, 2009. ISSN 1715-894X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19883531> >.

GURTNER, G. C. et al. Wound repair and regeneration. **Nature**, v. 453, n. 7193, p. 314-21, May 2008. ISSN 1476-4687. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18480812> >.

GÓMEZ VALIENTE DA SILVA, H.; FONSECA DE ANDRADE, C.; BELLO MOREIRA, A. S. Dietary intake and nutritional status in cancer patients; comparing adults and older adults. **Nutr Hosp**, v. 29, n. 4, p. 907-12, 2014. ISSN 1699-5198. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24679035> >.

HARRIS, W. T. et al. Myofibroblast differentiation and enhanced TGF- $\beta$  signaling in cystic fibrosis lung disease. **PLoS One**, v. 8, n. 8, p. e70196, 2013. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23950911> >.

HINZ, B. The extracellular matrix and transforming growth factor- $\beta$ 1: Tale of a strained relationship. **Matrix Biol**, v. 47, p. 54-65, Sep 2015. ISSN 1569-1802. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25960420> >.

HORBELT, D.; DENKIS, A.; KNAUS, P. A portrait of Transforming Growth Factor  $\beta$  superfamily signalling: Background matters. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 44, n. 3, p. 469-74, Mar 2012. ISSN 1878-5875. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22226817> >.

HUMINIECKI, L. et al. Emergence, development and diversification of the TGF-beta signalling pathway within the animal kingdom. **BMC Evol Biol**, v. 9, p. 28, 2009. ISSN 1471-2148. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19192293> >.

ISAILOVIC, N. et al. Interleukin-17 and innate immunity in infections and chronic inflammation. **J Autoimmun**, v. 60, p. 1-11, Jun 2015. ISSN 1095-9157. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25998834> >.

KARAMICHOS, D.; HUTCHEON, A. E.; ZIESKE, J. D. Reversal of fibrosis by TGF- $\beta$ 3 in a 3D in vitro model. **Exp Eye Res**, v. 124, p. 31-6, Jul 2014. ISSN 1096-0007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24800655> >.

KHALIL, N. TGF-beta: from latent to active. **Microbes Infect**, v. 1, n. 15, p. 1255-63, Dec 1999. ISSN 1286-4579. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10611753> >.

KHAN, T. et al. Metabolic dysregulation and adipose tissue fibrosis: role of collagen VI. **Mol Cell Biol**, v. 29, n. 6, p. 1575-91, Mar 2009. ISSN 1098-5549. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19114551> >.

KUBICZKOVA, L. et al. TGF- $\beta$  - an excellent servant but a bad master. **J Transl Med**, v. 10, p. 183, 2012. ISSN 1479-5876. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22943793> >.

KWOK, K. H.; LAM, K. S.; XU, A. Heterogeneity of white adipose tissue: molecular basis and clinical implications. **Exp Mol Med**, v. 48, p. e215, 2016. ISSN 2092-6413. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26964831> >.

LAVIANO, A. et al. Therapy insight: Cancer anorexia-cachexia syndrome--when all you can eat is yourself. **Nat Clin Pract Oncol**, v. 2, n. 3, p. 158-65, Mar 2005. ISSN 1743-4254. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16264909> >.

LEASK, A.; ABRAHAM, D. J. TGF-beta signaling and the fibrotic response. **FASEB J**, v. 18, n. 7, p. 816-27, May 2004. ISSN 1530-6860. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15117886> >.

LEE, H. M.; KIM, K. S.; KIM, J. A comparative study of the effects of inhibitory cytokines on human natural killer cells and the mechanistic features of transforming growth factor-beta. **Cell Immunol**, v. 290, n. 1, p. 52-61, Jul 2014. ISSN 1090-2163. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24879062> >.

LI, X. et al. The role of metformin and resveratrol in the prevention of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  accumulation and fibrosis in hypoxic adipose tissue. **Br J Pharmacol**, v. 173, n. 12, p. 2001-15, Jun 2016. ISSN 1476-5381. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27059094> >.

LICHTMAN, M. K.; OTERO-VINAS, M.; FALANGA, V. Transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) isoforms in wound healing and fibrosis. **Wound Repair Regen**, v. 24, n. 2, p. 215-22, Mar 2016. ISSN 1524-475X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26704519> >.

LIRA, F. S. et al. Effect of endurance training upon lipid metabolism in the liver of cachectic tumour-bearing rats. **Cell Biochem Funct**, v. 26, n. 6, p. 701-8, Aug 2008. ISSN 1099-0844. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18636434> >.

LOK, C. Cachexia: The last illness. **Nature**, v. 528, n. 7581, p. 182-3, Dec 2015. ISSN 1476-4687. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26659165> >.

MACHADO, A. P.; COSTA ROSA, L. F.; SEELAENDER, M. C. Adipose tissue in Walker 256 tumour-induced cachexia: possible association between decreased leptin concentration and mononuclear cell infiltration. **Cell Tissue Res**, v. 318, n. 3, p. 503-14, Dec 2004. ISSN 0302-766X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15490241> >.

MACIAS, M. J.; MARTIN-MALPARTIDA, P.; MASSAGUÉ, J. Structural determinants of Smad function in TGF- $\beta$  signaling. **Trends Biochem Sci**, v. 40, n. 6, p. 296-308, Jun 2015. ISSN 0968-0004. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25935112> >.

MARIMAN, E. C.; WANG, P. Adipocyte extracellular matrix composition, dynamics and role in obesity. **Cell Mol Life Sci**, v. 67, n. 8, p. 1277-92, Apr 2010. ISSN 1420-9071. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20107860> >.

MARKMANN, A. et al. Influence of decorin expression on transforming growth factor-beta-mediated collagen gel retraction and biglycan induction. **Matrix Biol**, v. 19, n. 7, p. 631-6, Dec 2000. ISSN 0945-053X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11102752> >.

MASSAGUÉ, J. How cells read TGF-beta signals. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 1, n. 3, p. 169-78, Dec 2000. ISSN 1471-0072. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11252892> >.

\_\_\_\_\_. TGFβ signalling in context. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 13, n. 10, p. 616-30, Oct 2012. ISSN 1471-0080. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22992590> >.

MASSAGUÉ, J.; CHEN, Y. G. Controlling TGF-beta signaling. **Genes Dev**, v. 14, n. 6, p. 627-44, Mar 2000. ISSN 0890-9369. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10733523> >.

MATHEW, S. J. InACTIVatINg cancer cachexia. **Dis Model Mech**, v. 4, n. 3, p. 283-5, May 2011. ISSN 1754-8411. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21372048> >.

MORLEY, J. E.; THOMAS, D. R.; WILSON, M. M. Cachexia: pathophysiology and clinical relevance. **Am J Clin Nutr**, v. 83, n. 4, p. 735-43, Apr 2006. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16600922> >.

MURPHY, R. A. et al. Loss of adipose tissue and plasma phospholipids: relationship to survival in advanced cancer patients. **Clin Nutr**, v. 29, n. 4, p. 482-7, Aug 2010. ISSN 1532-1983. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19959263> >.

MUSCARITOLI, M. et al. The "parallel pathway": a novel nutritional and metabolic approach to cancer patients. **Intern Emerg Med**, v. 6, n. 2, p. 105-12, Apr 2011. ISSN 1970-9366. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20596799> >.

NEVZOROVA, Y. A. et al. Overexpression of c-myc in hepatocytes promotes activation of hepatic stellate cells and facilitates the onset of liver fibrosis. **Biochim Biophys Acta**, v. 1832, n. 10, p. 1765-75, Oct 2013. ISSN 0006-3002. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23770341> >.

OUCHI, N. et al. Adipokines in inflammation and metabolic disease. **Nat Rev Immunol**, v. 11, n. 2, p. 85-97, Feb 2011. ISSN 1474-1741. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21252989> >.

RAJANGAM, T.; PARK, M. H.; KIM, S. H. 3D human adipose-derived stem cell clusters as a model for in vitro fibrosis. **Tissue Eng Part C Methods**, May 2016. ISSN 1937-3392. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27216608> >.

ROCKEY, D. C.; WEYMOUTH, N.; SHI, Z. Smooth muscle  $\alpha$  actin (Acta2) and myofibroblast function during hepatic wound healing. **PLoS One**, v. 8, n. 10, p. e77166, 2013. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24204762> >.

RODBELL, M. METABOLISM OF ISOLATED FAT CELLS. I. EFFECTS OF HORMONES ON GLUCOSE METABOLISM AND LIPOLYSIS. **J Biol Chem**, v. 239, p. 375-80, Feb 1964. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14169133> >.

RODRÍGUEZ, A. et al. Revisiting the adipocyte: a model for integration of cytokine signaling in the regulation of energy metabolism. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 309, n. 8, p. E691-714, Oct 2015. ISSN 1522-1555. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26330344> >.

ROSENBAUM, J. T. et al. Fibrosis, gene expression and orbital inflammatory disease. **Br J Ophthalmol**, v. 99, n. 10, p. 1424-9, Oct 2015. ISSN 1468-2079. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26038391> >.

ROUBENOFF, R. et al. Standardization of nomenclature of body composition in weight loss. **Am J Clin Nutr**, v. 66, n. 1, p. 192-6, Jul 1997. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9209192> >.

SCHMIERER, B.; HILL, C. S. TGFbeta-SMAD signal transduction: molecular specificity and functional flexibility. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 8, n. 12, p. 970-82, Dec 2007. ISSN 1471-0080. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18000526> >.

SEELAENDER, M. et al. Inflammation in Cachexia. **Mediators Inflamm**, v. 2015, p. 536954, 2015. ISSN 1466-1861. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26523095> >.

SEELAENDER, M. C.; BATISTA, M. L. Adipose tissue inflammation and cancer cachexia: the role of steroid hormones. **Horm Mol Biol Clin Investig**, v. 17, n. 1, p. 5-12, Jan 2014. ISSN 1868-1891. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25372726> >.

SHI, M. et al. Latent TGF- $\beta$  structure and activation. **Nature**, v. 474, n. 7351, p. 343-9, Jun 2011. ISSN 1476-4687. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21677751> >.

SHI, Y.; MASSAGUÉ, J. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus. **Cell**, v. 113, n. 6, p. 685-700, Jun 2003. ISSN 0092-8674. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12809600> >.

SINGH, P.; CARRAHER, C.; SCHWARZBAUER, J. E. Assembly of fibronectin extracellular matrix. **Annu Rev Cell Dev Biol**, v. 26, p. 397-419, 2010. ISSN 1530-8995. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20690820> >.

SPENCER, M. et al. Adipose tissue macrophages in insulin-resistant subjects are associated with collagen VI and fibrosis and demonstrate alternative activation. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 299, n. 6, p. E1016-27, Dec 2010. ISSN 1522-1555. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20841504> >.

TAN, C. K. et al. Getting 'Smad' about obesity and diabetes. **Nutr Diabetes**, v. 2, p. e29, 2012. ISSN 2044-4052. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23449528> >.

THEOCHARIS, A. D. et al. Extracellular matrix structure. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 97, p. 4-27, Feb 2016. ISSN 1872-8294. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26562801> >.

TISDALE, M. J. Cancer cachexia: metabolic alterations and clinical manifestations. **Nutrition**, v. 13, n. 1, p. 1-7, Jan 1997. ISSN 0899-9007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9058439> >.

\_\_\_\_\_. Cachexia in cancer patients. **Nat Rev Cancer**, v. 2, n. 11, p. 862-71, Nov 2002. ISSN 1474-175X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12415256> >.

\_\_\_\_\_. Cancer cachexia. **Curr Opin Gastroenterol**, v. 26, n. 2, p. 146-51, Mar 2010. ISSN 1531-7056. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19918173> >.

TSOLI, M.; ROBERTSON, G. Cancer cachexia: malignant inflammation, tumorkines, and metabolic mayhem. **Trends Endocrinol Metab**, v. 24, n. 4, p. 174-83, Apr 2013. ISSN 1879-3061. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23201432> >.

TSOLI, M. et al. Depletion of white adipose tissue in cancer cachexia syndrome is associated with inflammatory signaling and disrupted circadian regulation. **PLoS One**, v. 9, n. 3, p. e92966, 2014. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24667661> >.

TSURUTANI, Y. et al. The roles of transforming growth factor- $\beta$  and Smad3 signaling in adipocyte differentiation and obesity. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 407, n. 1, p. 68-73, Apr 2011. ISSN 1090-2104. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21356196> >.

UEHA, S.; SHAND, F. H.; MATSUSHIMA, K. Cellular and molecular mechanisms of chronic inflammation-associated organ fibrosis. **Front Immunol**, v. 3, p. 71, 2012. ISSN 1664-3224. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22566952> >.

VAN DER VELDEN, J. L. et al. Induction of a mesenchymal expression program in lung epithelial cells by wntless protein (Wnt)/ $\beta$ -catenin requires the presence of c-Jun N-terminal kinase-1 (JNK1). **Am J Respir Cell Mol Biol**, v. 47, n. 3, p. 306-14, Sep 2012. ISSN 1535-4989. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22461429> >.

VERRECCHIA, F.; CHU, M. L.; MAUVIEL, A. Identification of novel TGF-beta /Smad gene targets in dermal fibroblasts using a combined cDNA microarray/promoter transactivation approach. **J Biol Chem**, v. 276, n. 20, p. 17058-62, May 2001. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11279127> >.

WANG, B.; TRAYHURN, P. Acute and prolonged effects of TNF-alpha on the expression and secretion of inflammation-related adipokines by human adipocytes differentiated in culture. **Pflugers Arch**, v. 452, n. 4, p. 418-27, Jul 2006. ISSN 0031-6768. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16586095> >.

WYNN, T. A. Common and unique mechanisms regulate fibrosis in various fibroproliferative diseases. **J Clin Invest**, v. 117, n. 3, p. 524-9, Mar 2007. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17332879> >.

\_\_\_\_\_. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. **J Pathol**, v. 214, n. 2, p. 199-210, Jan 2008. ISSN 0022-3417. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18161745> >.

WYNN, T. A.; RAMALINGAM, T. R. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. **Nat Med**, v. 18, n. 7, p. 1028-40, Jul 2012. ISSN 1546-170X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22772564> >.

YADAV, H.; RANE, S. G. TGF- $\beta$ /Smad3 Signaling Regulates Brown Adipocyte Induction in White Adipose Tissue. **Front Endocrinol (Lausanne)**, v. 3, p. 35, 2012. ISSN 1664-2392. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22654861> >.

ZERR, P. et al. Sirt1 regulates canonical TGF- $\beta$  signalling to control fibroblast activation and tissue fibrosis. **Ann Rheum Dis**, v. 75, n. 1, p. 226-33, Jan 2016. ISSN 1468-2060. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25180292> >.

ZHOU, X. et al. Reversal of cancer cachexia and muscle wasting by ActRIIB antagonism leads to prolonged survival. **Cell**, v. 142, n. 4, p. 531-43, Aug 2010. ISSN 1097-4172. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20723755> >.



ZIORA, D. et al. Circulating concentration of markers of angiogenic activity in patients with sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis. **BMC Pulm Med**, v. 15, p. 113, 2015. ISSN 1471-2466. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26438257> >.