

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 26/02/2021.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



IDENTIFICAÇÃO DE POTENCIAIS BIOMARCADORES DE
CAQUEXIA NO SECRETOMA DE CARCINOMAS DE
PULMÃO DE CÉLULAS NÃO PEQUENAS

SARAH SANTILONI CURY

BOTUCATU – SP

2019



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

IDENTIFICAÇÃO DE POTENCIAIS BIOMARCADORES DE
CAQUEXIA NO SECRETOMA DE CARCINOMAS DE
PULMÃO DE CÉLULAS NÃO PEQUENAS

Mestranda: Sarah Santiloni Cury

Orientador: Robson Francisco Carvalho

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, como parte dos pré-requisitos necessários para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Genética).

BOTUCATU – SP

2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Cury, Sarah Santiloni.

Identificação de potenciais biomarcadores de caquexia no secretoma de carcinomas de pulmão de células não pequenas / Sarah Santiloni Cury. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Robson Francisco Carvalho

Capes: 20205007

1. Interleucina-8. 2. Tomografia. 3. Linhagem celular. 4. Mioblastos. 5. Marcadores bioquímicos. 6. Músculos peitorais. 7. Caquexia. 8. Pulmões - Câncer.

Palavras-chave: C2C12; Interleucina-8; Muscularidade; Secretoma; Tomografia computadorizada.

Dedicatória

À minha mãe, *Valquiria*, que
foi meu alicerce e sempre será
o maior amor de minha vida.

Ao meu irmão, *Caio*, que
acreditou em meu potencial e
se orgulhou de cada conquista.

Eu amo vocês.

Agradecimentos

À minha mãe que sempre estimulou meu prazer por estudar, aprender, ler e me informar. Sempre procurou me apoiar, mesmo sabendo que isso causaria nela muitas preocupações. Obrigada por ser essa mãezona e me educar para ser íntegra e honesta. Inspiro-me em você.

Ao meu irmão, por todas as ajudas. Quando a matemática e a informática eram demais para meu entendimento, quando meu computador não rodava minha análise. E obrigada por se orgulhar de mim e me achar tão inteligente, sei que é porque você é irmão coruja, mas fico muito feliz quando te ouço falar isso.

A todos meus familiares, em especial, à minha avó *Valquiria Cury* por ser meu maior exemplo de profissional. Obrigada por tudo o que a senhora fez por nós e obrigada por nunca ter desistido da gente.

Aos meus grandes parceiros de laboratório *Geysson, Jakeline, Leonardo, Juarez, Bruno Fantinatti, Bruna, Jéssica e Tassiana* que sempre me ensinam muito sobre ciência. Em especial à professora *Maeli Dal-Pai* que é nosso alicerce e um grande exemplo de pesquisadora, professora, mãe e mulher.

Aos meus amigos do laboratório e da vida *Paula Freire, Bruno Duran, Grasieli de Oliveira e Rafaela Nunes*. Agradeço à vida por ter guiado o meu caminho para encontrar vocês, vocês são extremamente importantes em minha vida.

Aos alunos de Iniciação Científica, em especial, ao *Douglas e Diogo* que foram indispensáveis para a realização deste trabalho.

Aos membros banca professoras *Sandra Linde e Renée Amorim*. Muito obrigada por estarem presentes neste momento tão importante de minha vida e contribuírem com o conhecimento tão valioso de vocês.

Às minhas amigas *Samara, Tamara, Amanda, Beatriz, Mariane, Yasmin, Betina e Camila* por sempre estarem por perto em todos os momentos, pela amizade de tantos anos e por todo apoio. Tenho muita sorte por ter vocês.

Ao *Leandro Gomes dos Santos* por me ajudar a ver o lado positivo da vida, mesmo quando a distância dificultava.

Aos colaboradores *Diogo de Moraes, Paula Paccielli Freire, Grasieli de Oliveira, Douglas Venâncio Pereira Marques, Geysson Javier Fernandez, Maeli Dal-Pai-Silva, Érica Nishida Hasimoto, Patricia Pintor dos Reis, Silvia Regina Rogatto, Robson Francisco Carvalho* que tanto se empenharam no desenvolvimento e escrita do manuscrito gerado a partir desde estudo.

À todos que conheci no Departamento de Clínica Genética do Hospital de Vejle, Dinamarca. Em especial à *Luisa Matos do Canto* que me acolheu com os braços abertos para minha primeira experiência internacional tão longa.

À todos os funcionários e docentes do Departamento de Morfologia do Instituto de Biociências – UNESP – Botucatu. E aos amigos que fiz durante esses anos, desde a minha Iniciação Científica neste departamento, em especial aos alunos do LabMec e agregados.

Ao programa de Pós-Graduação Ciências Biológicas (Genética) pela infra-estrutura e auxílio concedido através da bolsa CAPES do programa.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº 2017/21223-9) pela bolsa e auxílio financeiro concedidos. E ao *Ministry of Higher Education and Science of Denmark* pelo auxílio financeiro durante o estágio no hospital de Vejle.

Agradecimentos especiais

À professora *Silvia Rogatto* que me ensinou muito mais do que os conhecimentos dos livros, me ensinou sobre o amor, sobre a generosidade e sobre amizade. Foi um processo muito enriquecedor, e hoje, posso afirmar que sou uma profissional bem melhor graças aos seus ensinamentos e exemplos de postura crítica na pesquisa. Mas ainda tenho muito a aprender com você. Não paramos por aqui.

E finalmente, agradeço imensamente ao meu orientador *Prof Robson Carvalho* por me presentear com este trabalho lindo, confiar em meu potencial mesmo quando eu mesma não acreditava, e estimular a paixão pela pesquisa e ensino. E me dar todo o suporte e condições para ser a minha melhor versão. Além de ser um profissional exemplar você é um ser humano incrível que tive a sorte de ter como orientador e amigo.

Epígrafe

Há na vida momentos privilegiados nos quais parece que o universo se ilumina, que nossa vida nos revela sua significação, que nós queremos o destino mesmo que nos coube, como se nós próprios o tivéssemos escolhido.

(Louis Lavelle)

Sumário

Resumo.....	9
Abstract	10
1. Introdução	11
Caquexia associada ao câncer	11
Secretoma.....	12
Câncer de pulmão.....	13
Tomografias computadorizadas para avaliação da área muscular de pacientes com câncer de pulmão.....	15
2. Hipótese	19
3. Objetivos	20
Objetivos Gerais.....	20
Objetivos Específicos.....	20
4. Capítulo 1	21
5. Considerações Finais.....	59
6. Referências Bibliográficas	60

Resumo

A caquexia é uma síndrome metabólica complexa que frequentemente acomete pacientes portadores de neoplasia maligna em estágio clínico avançado. Caracteriza-se pela perda de massa muscular (com ou sem perda de tecido adiposo), a qual não pode ser completamente revertida por suporte nutricional. As vias moleculares responsáveis pela caquexia não estão completamente esclarecidas, entretanto, os avanços em estudos genômicos, transcriptômicos e proteômicos no câncer tem auxiliado na compreensão da importante relação entre o secretoma tumoral com alterações em órgãos e tecidos adjacentes ou distantes do tumor. Evidências têm demonstrado que componentes do secretoma do ambiente tumoral, incluindo citocinas pró-inflamatórias, possuem um papel fundamental no desenvolvimento de alterações metabólicas que resultam em sarcopenia (perda de função e massa muscular) em pacientes caquéticos. A perda de massa muscular é considerada um importante fator prognóstico de caquexia para pacientes com carcinomas de pulmão de células não pequenas (CPCNP) e, portanto, a avaliação de área muscular utilizando-se de tomografias computadorizadas (CTs) tem sido utilizada com grande eficácia para determinar a sobrevida e a presença de caquexia e sarcopenia nesses pacientes. Portanto, a hipótese desse trabalho é que a integração de dados clínicos e prognósticos, área dos músculos peitorais obtidas por CTs e perfil transcricional tumoral permitirá identificar potenciais biomarcadores de caquexia no secretoma de carcinomas de pulmão de células não pequenas. Para isso, 89 CTs de pacientes com CPCNP, disponíveis na plataforma TCIA (*The Cancer Imaging Archive*), foram analisadas para determinação da área dos músculos peitorais, a qual foi utilizada para seleção de pacientes com baixa ou alta muscularidade. A análise de expressão diferencial de genes do tumor desses mesmos pacientes foi realizada para selecionar transcritos com expressão aumentada no tumor de pacientes com baixa muscularidade. Destes, selecionamos os genes relacionados ao secretoma do tumor, a partir de análises *in silico* para predição de proteínas secretadas. Além disso, essas moléculas foram avaliadas quanto à sua classificação funcional e relação com dados clínicos dos pacientes. Nossos dados demonstram a relevância da citocina pró-inflamatória, *Inteleucina-8*, como potencial biomarcador de caquexia associado ao pior prognóstico de CPCNP. Esses dados são úteis para detecção precoce da caquexia e podem ter impacto na clínica de pacientes com CPCNP.

Palavras chave: Muscularidade, Secretoma, Interleucina-8, Tomografia computadorizada, C2C12

Abstract

Cachexia is a metabolic syndrome characterized by an ongoing loss of skeletal muscle mass (with or without loss of adipose tissue) that cannot be fully reversed by conventional nutritional support, most found in patients with advanced cancer. The molecular pathways of cancer cachexia are not completely known. The advances in genomic, transcriptomic and proteomic studies in cancer have helped in understanding the relationship of the tumor's secretome with changes in organs and tissues adjacent to or distant from the tumor. Evidences show that components of the tumor secretome, including pro-inflammatory cytokines, play a key role in metabolic alterations that result in sarcopenia (loss of muscle mass and function) of cachectic patients. Loss of skeletal muscle mass is important prognostic factor for cachexia in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC), thus the evaluation of muscular area using computed tomography (CT) has been effective in determine survival and the presence of cachexia and sarcopenia in these patients. Therefore, our hypothesis is that the integration of clinical and prognostic data, pectoralis muscle area obtained by CTs, and tumor transcriptional profile will allow the identification of potential biomarkers of cachexia in the secretome of non-small cell lung carcinomas. To do this, 89 CTs from patients with NSCLC, available on the TCIA (The Cancer Imaging Archive) platform were used to measure the pectoralis muscle area, and to select patients with low or high muscularity. Differential gene expression analysis of tumor from these same patients was performed to select transcripts with increased expression in the tumor of low muscularity patients. Transcripts related to the tumor's secretome were selected through *in silico* prediction analyzes. In addition, these molecules were evaluated for their functional classification and relationship to the clinical data of each patient. Our results demonstrated the relevance of *Interleukin-8* as potential biomarkers of cachexia associated with poor prognosis of patients with NSCLC. These data are useful for early detection of cachexia, which may have clinical impact in the management of patients with NSCLC.

Keywords: Muscularity, Secretome, Interleukin-8, Computed tomography, C2C12

1. Considerações Finais

A caquexia associada ao câncer é uma condição que implica em baixa qualidade de vida e prognóstico desfavorável aos pacientes com câncer de pulmão de células não pequenas. Portanto, a compreensão dos mecanismos moleculares que diferem nos tumores dos pacientes que desenvolvem esta doença torna-se indispensável para obtenção de novos biomarcadores e alvos terapêuticos.

Desta forma, concluímos que a análise da área dos músculos peitorais é uma metodologia eficiente para distinguir pacientes com diferentes muscularidades através de imagens de TCs. Tumores de pacientes com CPCNP e baixa muscularidade apresentam um conjunto de genes com expressão aumentada que codificam proteínas possivelmente secretadas, incluindo as citocinas pró-inflamatórias, as quais predizem pior sobrevida em pacientes com CPCNP. Dentre esses genes com aumento de expressão, a *IL8* está associada ao pior prognóstico de pacientes com CPCNP e, além disso, a IL-8 recombinante é capaz de induzir diretamente atrofia em miotubos C2C12.

2. Referências Bibliográficas

1. Evans, W. J. *et al.* Cachexia: A new definition. *Clin. Nutr.* **27**, 793–799 (2008).
2. Fearon, K. *et al.* Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus. *Lancet Oncol.* **12**, 489–495 (2011).
3. Cruz-Jentoft, A. *et al.* Sarcopenia : European consensus on definition and diagnosis Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing* **39**, 412–423 (2010).
4. Cohen, S., Nathan, J. A. & Goldberg, A. L. Muscle wasting in disease : molecular mechanisms and promising therapies. *Nat. Publ. Gr.* **14**, 58–74 (2015).
5. Busquets, S., Stemmler, B. & Lo, F. J. Cachexia and sarcopenia : mechanisms and potential targets for intervention. *Curr Opin Pharmacol.* **22**, 100–106 (2015).
6. Haehling, S. Von, Anker, M. S. & Anker, S. D. Prevalence and clinical impact of cachexia in chronic illness in Europe , USA , and Japan : facts and numbers update 2016. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* **7**, 507–509 (2016).
7. Donohoe, C. L., Ryan, A. M. & Reynolds, J. V. Cancer Cachexia : Mechanisms and Clinical Implications. *Gastroenterol Res Pr.* **2011**, 601430 (2011).
8. Baracos, V. E., Martin, L., Korc, M., Guttridge, D. C. & Fearon, K. C. H. Cancer-associated cachexia. *Nat. Publ. Gr.* **4**, 1–18 (2018).
9. Tisdale, M. J. Cachexia in cancer patients. *Nat. Rev. cancer* **3**, 883–9 (2002).
10. Tsoli, M. & Robertson, G. Cancer cachexia : malignant inflammation, tumorkines, and metabolic mayhem. *Trends Endocrinol Metab* **24**, 174–183 (2013).
11. Fox, K. M., Brooks, J. M., Gandra, S. R., Markus, R. & Chiou, C. Estimation of Cachexia among Cancer Patients Based on Four Definitions. *J Oncol* **2009**, 693458 (2009).
12. Muscaritoli, M., Fanelli, F. R. & Molino, A. Perspectives of health care professionals on cancer cachexia : results from three global surveys. *Ann Oncol* **27**, 2230–2236 (2016).
13. Petruzzelli, M. & Wagner, E. F. Mechanisms of metabolic dysfunction in cancer-associated cachexia. *Genes Dev* **30**, 489–501 (2016).
14. Cosper, P. & Leinwand, L. Myosin heavy chain is not selectively decreased in murine cancer cachexia. *Int J Cancer* **130**, 2722–2727 (2012).
15. Muscaritoli, M., Anker, S. & Argiles, J. 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’. *Clin Nutr* **29**, 154–9 (2010).
16. Argilés, J. M., Busquets, S., Stemmler, B. & López-soriano, F. J. Cancer cachexia : understanding the molecular basis. *Nat. Publ. Gr.* **14**, 754–762 (2014).
17. Martin, L. *et al.* Cancer Cachexia in the Age of Obesity : Skeletal Muscle Depletion Is a Powerful Prognostic Factor , Independent of Body Mass Index. **31**, (2016).
18. Miyamoto, Y., Baba, Y., Sakamoto, Y. & Ohuchi, M. Sarcopenia is a Negative Prognostic Factor After Curative Resection of Colorectal Cancer. *Ann Surg Oncol* **22**, 2663–2668 (2015).
19. van Vledder, M. G. Van *et al.* Body composition and outcome in patients undergoing resection of colorectal liver metastases. *Br J Surg.* **99**, 550–557 (2012).
20. Stene, G. B. *et al.* Changes in skeletal muscle mass during palliative chemotherapy in patients with advanced lung cancer. *Acta Oncol* **54**, 340–348 (2015).
21. Kim, E. Y., Kim, Y. S., Park, I. & Ahn, H. K. Prognostic Significance of CT-Determined Sarcopenia in Patients with Small-Cell Lung Cancer Characteristics of the Study Population. *J. Thorac. Oncol.* **10**, 1795–1799 (2015).
22. Kim, E. Y. *et al.* Prognostic significance of cachexia score assessed by CT in male patients with small cell lung cancer. *Eur. J. Cancer Care (Engl).* **27**, 1–6 (2017).
23. Nattenmüller, J. *et al.* Prognostic Impact of CT-Quantified Muscle and Fat Distribution before and after First-Line-Chemotherapy in Lung Cancer Patients. *PLoS One* **12**, e0169136 (2017).
24. Twelkmeyer, B., Tardif, N. & Rooyackers, O. Omics and cachexia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **20**, 181–185 (2017).
25. Patel, S., Ngounou Wetie, A., Darie, C. & Clarkson, B. Cancer secretomes and their place in supplementing other hallmarks of cancer. *Adv Exp Med Biol* **806**, 409–42 (2014).
26. Makridakis, M. & Vlahou, A. Secretome proteomics for discovery of cancer biomarkers. *Proteomics, J* **73**, 2291–305 (2010).
27. Tjalsma, H., Bolhuis, A., Jongbloed, J., Bron, S. & van Dijk, J. Signal peptide-dependent protein transport in *Bacillus subtilis*: a genome-based survey of the secretome. *Microbiol Mol Biol Rev* **64**, 515–547 (2000).
28. Schaaij-visser, T. B. M., Wit, M. De, Lam, S. W. & Jiménez, C. R. The cancer secretome, current status and

- opportunities in the lung , breast and colorectal cancer context. *BBA - Proteins Proteomics* **1834**, 2242–2258 (2013).
29. Mukherjee, P. & Mani, S. Methodologies to decipher the cell secretome. *Biochim Biophys Acta* **1834**, 2226–32 (2013).
 30. Papaleo, E., Gromova, I. & Gromov, P. Gaining insights into cancer biology through exploration of the cancer secretome using proteomic and bioinformatic tools. *Expert Rev. Proteomics* **14**, 1021–1035 (2017).
 31. Bray, F. *et al.* Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* **68**, 394–424 (2018).
 32. Instituto Nacional de Cancer José Alencar Gomes da Silva. *INCA - Instituto Nacional de Câncer - Estimativa 2016. Ministério da Saúde Instituto Nacional de Cancer José Alencar Gomes da Silva* (2016). doi:978-85-7318-283-5
 33. Mitchell, G. & Mitchell, C. Lung cancer. *Aust Fam Physician* **33**, 321–325 (2004).
 34. Wahbah, M., Boroumand, N., Castro, C., El-zeky, F. & Eltorkey, M. Changing trends in the distribution of the histologic types of lung cancer : a review of 4439 cases. *Ann Diagn Pathol* **11**, 89–96 (2007).
 35. Hecht, S. S. Tobacco Smoke Carcinogens and Lung Cancer. *J Natl Cancer Inst* **91**, 1194–1210 (1999).
 36. Unit, L., Hospital, R. M. & Road, D. Do patients with weight loss have a worse outcome when undergoing chemotherapy for lung cancers ? *Br J Cancer* **90**, 1905–1911 (2004).
 37. Del Ferraro, C., Grant, M., Koczywas, M. & Dorr-Uyemura, L. Management of Anorexia-Cachexia in Late Stage Lung Cancer Patients. *J Hosp Palliat Nurs* **14**, (2012).
 38. Miller, A. *et al.* Blockade of the IL-6 trans-signalling / STAT3 axis suppresses cachexia in Kras-induced lung adenocarcinoma. *Oncogene* **36**, 3059–3066 (2016).
 39. Gomez, D. *et al.* Integrative proteomic and transcriptomic analysis provides evidence for TrkB (NTRK2) as a therapeutic target in combination with tyrosine kinase inhibitors for non-small cell lung cancer. *Oncotarget* **9**, 14268–14284 (2018).
 40. Mitchell, K., Zingone, A., Toulabi, L., Boeckelman, J. & Ryan, B. Comparative Transcriptome Profiling Reveals Coding and Noncoding RNA Differences in NSCLC from African Americans and European Americans. *Clin Cancer Res* **23**, 7412–7425 (2017).
 41. Penna, F., Busquets, S. & Argilés, J. M. Experimental cancer cachexia : Evolving strategies for getting closer to the human scenario. *Semin. Cell Dev. Biol.* **54**, 20–27 (2016).
 42. Rung, J. & Brazma, A. Reuse of public genome-wide gene expression data. *Nat. Rev. Genet.* **14**, 89–99 (2013).
 43. Clark, K. *et al.* The Cancer Imaging Archive (TCIA): Maintaining and Operating a Public Information Repository. *J Digit Imaging* **26**, 1045–1057 (2013).
 44. Tomczak, K., Czerwińska, P. & Wiznerowicz, M. The Cancer Genome Atlas (TCGA): an immeasurable source of knowledge. *Contemp Oncol (Pozn)* **19**, A68–77 (2015).
 45. Barrett, T. *et al.* NCBI GEO: archive for functional genomics data sets--update. *Nucleic Acids Res.* **41**, D991–5 (2013).
 46. Hubbard, J. M., Cohen, H. J. & Muss, H. B. Incorporating Biomarkers Into Cancer and Aging Research. *J Clin Oncol* **32**, 2611–2616 (2014).
 47. Bhuachalla, É. B. N. *et al.* Computed tomography diagnosed cachexia and sarcopenia in 725 oncology patients : is nutritional screening capturing hidden malnutrition? *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 295–305 (2018). doi:10.1002/jcsm.12258
 48. Mohammad, S., Kazemi-bajestani, R., Mazurak, V. C. & Baracos, V. Computed tomography-defined muscle and fat wasting are associated with cancer clinical outcomes. *Semin. Cell Dev. Biol.* **54**, 2–10 (2016).
 49. Baracos, V. E., Reiman, T., Mourtzakis, M., Gioulbasanis, I. & Antoun, S. Body composition in patients with non-small cell lung cancer: a contemporary view of cancer cachexia with the use of computed tomography image analysis. *Am J Clin Nutr* **91**, 1133–1137 (2010).
 50. Roeland, E. J. *et al.* Weight loss versus muscle loss : re-evaluating inclusion criteria for future cancer cachexia interventional trials. *Support. Care Cancer* **25**, 365–369 (2017).
 51. Kim, E. Y., Kim, Y. S., Park, I. & Ahn, H. K. Evaluation of sarcopenia in small-cell lung cancer patients by routine chest CT. *Support. Care Cancer* **24**, 4721–4726 (2016).
 52. Tamandl, D. *et al.* Markers of sarcopenia quantified by computed tomography predict adverse long-term outcome in patients with resected oesophageal or gastro-oesophageal junction cancer. *Eur Radiol* **26**, 1359–1367 (2016).
 53. Kim, E. Y., Kim, Y. S., Seo, J., Park, I. & Ahn, H. K. The Relationship between Sarcopenia and Systemic Inflammatory Response for Cancer Cachexia in Small Cell Lung Cancer. *PLoS One* **11**, e0161125 (2016).
 54. Jafri, R., Previgiano, C., Khandelwal, K. & Shi, R. Cachexia Index in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer Patients. *Clin Med Insights Oncol* **9**, 87–93 (2015).
 55. Collins, J., Noble, S., Chester, J., Coles, B. & Byrne, A. The assessment and impact of sarcopenia in lung cancer : a systematic literature review. *BMJ Open* **4**, e003697 (2014).

56. Müller, M. J., Geisler, C., Pourhassan, M. & Glüer, C. Assessment and definition of lean body mass deficiency in the elderly. *Eur J Clin Nutr* **68**, 1220–1227 (2014).
57. Kinsey, C. M. & Cole, B. F. Lower Pectoralis Muscle Area is Associated with a Worse Overall Survival in Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **26**, 38–43 (2017).
58. Aerts, H. J. W. L. *et al.* Decoding tumour phenotype by noninvasive imaging using a quantitative radiomics approach. *Nat. Commun* **3**, 5:4006 (2014).
59. Albertina, B. *et al.* Radiology Data from The Cancer Genome Atlas Lung Adenocarcinoma [TCGA-LUAD] collection. *The Cancer Imaging Archive* <http://doi.org/10.7937/K9/TCIA.2016.JGNIHEP5> (2016). doi:10.7937
60. Kirk, S. *et al.* Radiology Data from The Cancer Genome Atlas Lung Squamous Cell Carcinoma [TCGA-LUSC] collection. *The Cancer Imaging Archive* <http://doi.org/10.7937/K9/TCIA.2016.TYGKFKMQ> (2016). doi:10.7937/K9/TCIA.2016.TYGKFKMQ
61. Colaprico, A., Silva, T., Olsen, C., Garofano, L. & Cava, C. TCGAbiolinks: An R/Bioconductor package for integrative analysis of TCGA data. *Nucleic Acids Res.* **44**, e71 (2015).
62. Robinson, M., McCarthy, D. & Smyth, G. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics* **26**, 139–140 (2010).
63. Cheung, K. *et al.* Extending gene ontology in the context of extracellular RNA and vesicle communication. *J. Biomed. Semantics* **7**, 19 (2016).
64. Boutet, E., Lieberherr, D., Tognolli, M., Schneider, M. & Bairoch, A. UniProtKB/Swiss-Prot, the Manually Annotated Section of the UniProt KnowledgeBase: How to Use the Entry View. *Methods Mol Biol* **1374**, 23–54 (2016).
65. Petersen, T., Brunak, S., von Heijne, G. & Nielsen, H. SignalP 4.0: discriminating signal peptides from transmembrane regions. *Nat Methods.* **29**, 785–786 (2011).
66. Bendtsen, J., Jensen, L., Blom, N., Von Heijne, G. & Brunak, S. Feature-based prediction of non-classical and leaderless protein secretion. *Protein Eng Des Sel* **17**, 349–356 (2004).
67. Emanuelsson, O., Nielsen, H., Brunak, S. & von Heijne, G. Predicting subcellular localization of proteins based on their N-terminal amino acid sequence. *J Mol Biol.* **300**, 1005–1016 (2000).
68. Kalra, H. *et al.* Vesiclepedia: a compendium for extracellular vesicles with continuous community annotation. *PLoS Biol* **10**, e1001450 (2012).
69. Kim, D., Lee, J., Kim, S., Choi, D. & Yoon, Y. EVpedia: a community web portal for extracellular vesicles research. *Bioinformatics* **31**, 933–939 (2015).
70. Mathivanan, S., Fahner, C., Reid, G. & Simpson, R. ExoCarta 2012: database of exosomal proteins, RNA and lipids. *Nucleic Acids Res* **40**, 1241–1244 (2012).
71. Feizi, A., Banaei-esfahani, A. & Nielsen, J. Database tool HCSD : the human cancer secretome database. *Database (Oxford)* bav051 (2015). doi:10.1093/database/bav051
72. Nanjappa, V., Thomas, J., Marimuthu, A. & Muthusamy, B. Plasma Proteome Database as a resource for proteomics research: 2014 update. *Nucleic Acids Res* **42**, 959–965 (2014).
73. Surowiak, P. & Budczies, J. Online Survival Analysis Software to Assess the Prognostic Value of Biomarkers Using Transcriptomic Data in Non-Small-Cell Lung Cancer. *PLoS One* **8**, e82241 (2013).
74. Lee, E., Son, D., Kim, S. & Lee, J. Prediction of recurrence-free survival in postoperative non-small cell lung cancer patients by using an integrated model of clinical information and gene expression. *Clin Cancer Res* **14**, 7397–404 (2008).
75. Rousseaux, S., Debernardi, A., Jacquiau, B. & Vitte, A. Ectopic activation of germline and placental genes identifies aggressive metastasis-prone lung cancers. *Sci Transl Med* **5**, 186ra66 (2013).
76. Yamauchi, M., Yamaguchi, R., Nakata, A. & Kohno, T. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase defines critical prognostic genes of stage I lung adenocarcinoma. *PLoS One* **7**, e43923 (2012).
77. Okayama, H., Kohno, T., Ishii, Y. & Shimada, Y. Identification of genes upregulated in ALK-positive and EGFR/KRAS/ALK-negative lung adenocarcinomas. *Cancer Res* **72**, 100–111 (2012).
78. Shedden, K., Taylor, J. & Enkemann, S. Director’s Challenge Consortium for the Molecular Classification of Lung Adenocarcinoma. Gene expression-based survival prediction in lung adenocarcinoma: a multi-site, blinded validation study. *Nat Med* **14**, 822–7 (2008).
79. Yaffe, D. & Saxel, O. Serial passaging and differentiation of myogenic cells isolated from dystrophic mouse muscle. *Nature* **270**, 725–7
80. Ferlay, J. *et al.* Cancer incidence and mortality worldwide : Sources , methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **386**, (2015).
81. Herbst, R. S., Morgensztern, D. & Boshoff, C. The biology and management of non-small cell lung cancer. *Nat. Publ. Gr.* **553**, 446–454 (2018).
82. Fearon, K. *et al.* Definition and classification of cancer cachexia: An international consensus. *Lancet Oncol.* **12**, 489–495 (2011).

83. Mytelka, D. S., Li, L. & Benoit, K. Post-diagnosis weight loss as a prognostic factor in non-small cell lung cancer. *J. Cachexia. Sarcopenia Muscle* **9**, 86–92 (2018).
84. Dahlberg, S. E. *et al.* Body mass index and its association with clinical outcomes for advanced non-small-cell lung cancer patients enrolled on eastern cooperative oncology group clinical trials. *J. Thorac. Oncol.* **8**, 1121–1127 (2013).
85. Martin, L. *et al.* Cancer cachexia in the age of obesity: Skeletal muscle depletion is a powerful prognostic factor, independent of body mass index. *J. Clin. Oncol.* **31**, 1539–1547 (2013).
86. Prado, C. M. M. *et al.* Prevalence and clinical implications of sarcopenic obesity in patients with solid tumours of the respiratory and gastrointestinal tracts: a population-based study. 629–635 doi:10.1016/S1470-2045(08)70153-0
87. Management, S., Care, S. & Assessment, G. Nutritional Status , Body Surface , and Low Lean Body Mass / Body Mass Index Are Related to Dose Reduction and Severe Gastrointestinal Toxicity Induced by Afatinib in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer. 967–974 (2015).
88. Fløtten, Ø., Hjermstad, M. J., Aass, N. & Jordhøy, M. Low muscle mass is associated with chemotherapy-induced haematological toxicity in advanced non-small cell lung cancer. 1–7 (2015). doi:10.1016/j.lungcan.2015.07.001
89. Kinsey, C. M. *et al.* Lower Pectoralis Muscle Area Is Associated with a Worse Overall Survival in Non – Small. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **26**, 38–44 (2017).
90. Bye, A. *et al.* Muscle mass and association to quality of life in non-small cell lung cancer patients. *J. Cachexia. Sarcopenia Muscle* **8**, 759–767 (2017).
91. Kilgour, R. D. *et al.* Cancer-related fatigue: The impact of skeletal muscle mass and strength in patients with advanced cancer. *J. Cachexia. Sarcopenia Muscle* **1**, 177–185 (2010).
92. Hsiao, Y., Chu, L., Chen, J., Yeh, T. & Yu, J. Proteomic profiling of the cancer cell secretome: informing clinical research. *Expert Rev Proteomics* **14**, 737–756 (2017).
93. Pavlou, M. P. & Diamandis, E. P. The cancer cell secretome: A good source for discovering biomarkers? *J. Proteomics* **73**, 1896–1906 (2010).
94. Fukawa, T. *et al.* Excessive fatty acid oxidation induces muscle atrophy in cancer cachexia. *Nat. Med.* **22**, 666–671 (2016).
95. Schäfer, M. *et al.* Ataxin-10 is part of a cachexokine cocktail triggering cardiac metabolic dysfunction in cancer cachexia. *Mol. Metab.* **5**, 67–78 (2016).
96. McLean, J. B., Moylan, J. S., Horrell, E. M. W. & Andrade, F. H. Proteomic analysis of media from lung cancer cells reveals role of 14-3-3 proteins in cachexia. *Front. Physiol.* **6**, 1–8 (2015).
97. Aerts, H. J. W. L. *et al.* Decoding tumour phenotype by noninvasive imaging using a quantitative radiomics approach. *Nat. Commun.* **5**, (2014).
98. Aerts, Hugo J. W. L., Rios Velazquez, Emmanuel, Leijenaar, Ralph T. H., Parmar, Chintan, Grossmann, Patrick, Carvalho, Sara, ... Lambin, P. Data From NSCLC-Radiomics-Genomics.The Cancer Imaging Archive. (2015). doi:http://doi.org/10.7937/K9/TCIA.2015.L4FRET6Z
99. Freymann, J., Kirby, J., Perry, J., Clunie, D. & Jaffe, C. Image data sharing for biomedical research--meeting HIPAA requirements for De-identification. *J Digit Imaging* **25**, 14–24 (2012).
100. McDonald, M. *et al.* Quantitative computed tomography measures of pectoralis muscle area and disease severity in chronic obstructive pulmonary disease. A cross-sectional study. *Ann Am Thorac Soc* **11**, 326–334 (2014).
101. Nilufer, G. & Ayse, Y. Estimation of stature and sex from sternal lengths : an autopsy study. 89–96 (2015). doi:10.1007/s12565-014-0235-0
102. Mccarthy, I. D., Mcgregor, A. H. & Coombs, R. R. H. Geometrical dimensions of the lower lumbar vertebrae – analysis of data from digitised CT images. 242–248 (2000).
103. Yaguchi, Y., Kumata, Y., Horikawa, M. & Kiyokawa, T. Clinical Significance of Area of Psoas Major Muscle on Computed Tomography after Gastrectomy in Gastric Cancer Patients. 145–149 (2017). doi:10.1159/000480520
104. Blake, J. *et al.* Gene Ontology Consortium: going forward. *Nucleic Acids Res* **43**, 1049–1056 (2015).
105. Szklarczyk, D. *et al.* The STRING database in 2017: quality-controlled protein–protein association networks, made broadly accessible. *Nucleic Acids Res.* **45**, D362–D368 (2017).
106. Snel, B., Lehmann, G., Bork, P. & Huynen, M. A. STRING: a web-server to retrieve and display the repeatedly occurring neighbourhood of a gene. *Nucleic Acids Res.* **28**, 3442–4 (2000).
107. Aguirre-gamboa, R. *et al.* SurvExpress : An Online Biomarker Validation Tool and Database for Cancer Gene Expression Data Using Survival Analysis. *PLoS One* **8**, e74250 (2013).
108. Tomczak, K., Czerwińska, P. & Wiznerowicz, M. The Cancer Genome Atlas (TCGA): an immeasurable source of knowledge. (2014). doi:10.5114/wo.2014.47136
109. Penafuerte, C. A. *et al.* Identification of neutrophil-derived proteases and angiotensin II as biomarkers of cancer cachexia. *Br. J. Cancer* **114**, 680–687 (2016).

110. Kuroda, K. *et al.* Interleukin 6 is associated with cachexia in patients with prostate cancer. *Urology* **69**, 113–117 (2007).
111. Hou, Y.-C. *et al.* Elevated Serum Interleukin-8 Level Correlates with Cancer-Related Cachexia and Sarcopenia: An Indicator for Pancreatic Cancer Outcomes. *J. Clin. Med.* **7**, 502 (2018).
112. Kandarian, S. C. *et al.* Tumour-derived leukaemia inhibitory factor is a major driver of cancer cachexia and morbidity in C26 tumour-bearing mice. *J. Cachexia. Sarcopenia Muscle* **9**, 1109–1120 (2018).
113. Carson, J. A. & Baltgalvis, K. A. Interleukin 6 as a key regulator of muscle mass during cachexia. *Exerc. Sport Sci. Rev.* **38**, 168–76 (2010).
114. Silva, E. M. *et al.* High systemic IL-6 is associated with worse prognosis in patients with non-small cell lung cancer. *PLoS One* **12**, 1–12 (2017).
115. Pettersen, K. *et al.* Cancer cachexia associates with a systemic autophagy-inducing activity mimicked by cancer cell-derived IL-6 trans-signaling. *Sci. Rep.* **7**, 2046 (2017).
116. Teigen, L. *et al.* Preoperative Pectoralis Muscle Quantity and Attenuation by Computed Tomography Are Novel and Powerful Predictors of Mortality After Left Ventricular Assist Device Implantation. *Circ Hear. Fail* **10(9)**, pii: e004069 (2017).
117. Fearon, K. C. H., Glass, D. J. & Guttridge, D. C. Cancer cachexia: mediators, signaling, and metabolic pathways. *Cell Metab.* **16**, 153–66 (2012).
118. Srdic, D. *et al.* Cancer cachexia, sarcopenia and biochemical markers in patients with advanced non-small cell lung cancer—chemotherapy toxicity and prognostic value. *Support. Care Cancer* **24**, 4495–4502 (2016).
119. Pfitzenmaier, J. *et al.* Elevation of cytokine levels in cachectic patients with prostate carcinoma. *Cancer* **97**, 1211–1216 (2003).
120. Tazaki, E. *et al.* Serum cytokine profiles in patients with prostate carcinoma. *Exp. Ther. Med.* **2**, 887–891 (2011).
121. Alves, M. J. *et al.* Adipose tissue fibrosis in human cancer cachexia: The role of TGF β pathway. *BMC Cancer* **17**, 1–12 (2017).
122. Zhang, D., Song, B., Wang, S., Zheng, H. & Wang, X. Association of interleukin-8 with cachexia from patients with low-third gastric cancer. *Comp. Funct. Genomics* **2009**, 1–6 (2009).
123. Lerner, L. *et al.* Plasma growth differentiation factor 15 is associated with weight loss and mortality in cancer patients. *J. Cachexia. Sarcopenia Muscle* **6**, 317–324 (2015).
124. Kuroda, K. *et al.* Interleukin 6 Is Associated with Cachexia in Patients with Prostate Cancer. *Urology* **69**, 113–117 (2007).
125. Richey, L. M. *et al.* Defining cancer cachexia in head and neck squamous cell carcinoma. *Clin. Cancer Res.* **13**, 6561–6567 (2007).
126. Krzystek-Korpacka, M. *et al.* Impact of weight loss on circulating IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , VEGF-A, VEGF-C and midkine in gastroesophageal cancer patients. *Clin. Biochem.* **40**, 1353–1360 (2007).
127. Dolan, R. D. *et al.* The relationship between computed tomography-derived body composition, systemic inflammatory response, and survival in patients undergoing surgery for colorectal cancer. *J. Cachexia. Sarcopenia Muscle* (2018). doi:10.1002/jcsm.12357
128. van Dijk, D. P. J. *et al.* Host phenotype is associated with reduced survival independent of tumour biology in patients with colorectal liver metastases. *J. Cachexia. Sarcopenia Muscle* (2018). doi:10.1002/jcsm.12358
129. Dunstan, C. A. N. *et al.* Identification of two rat genes orthologous to the human interleukin-8 receptors. *J. Biol. Chem.* **271**, 32770–32776 (1996).
130. Gerber, M. H. *et al.* Local and Systemic Cytokine Profiling for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma to Study Cancer Cachexia in an Era of Precision Medicine. *Int. J. Mol. Sci.* **19**, 3836 (2018).