

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
tese será disponibilizado
somente a partir de 25/05/2028.

INTEGRATIVE MULTI-OMICS ANALYSIS REVEALS CODING AND NONCODING
DRIVERS OF CANCER-ASSOCIATED CACHEXIA: A SYSTEMS-LEVEL STUDY
ACROSS HUMANS AND ANIMAL MODELS

AMANDA PIVETA SCHNEPPER

BOTUCATU – SP

2026

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

INTEGRATIVE MULTI-OMICS ANALYSIS REVEALS CODING AND NONCODING
DRIVERS OF CANCER-ASSOCIATED CACHEXIA: A SYSTEMS-LEVEL STUDY
ACROSS HUMANS AND ANIMAL MODELS

PhD Candidate: Amanda Piveta Schnepfer

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, *Câmpus* de Botucatu, UNESP, para a obtenção do título de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Genética).

Orientador: Prof. Robson Francisco Carvalho
Coorientador: Prof. Geysson Javier Fernandes Garcia

BOTUCATU - SP

2026

S359i

Schnepper, Amanda Piveta

Integrative multi-omics analysis reveals coding and noncoding drivers of cancer-associated cachexia : a systems-level study across humans and animal models / Amanda Piveta Schnepper. -- Botucatu, 2026

164 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu

Orientador: Robson Francisco Carvalho

Coorientador: Geysson Javier Fernandes Garcia

1. Câncer associated-cachexia. 2. Multi-omics. 3. System Biology. I. Título.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE AMANDA PIVETA SCHNEPPER, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (GENÉTICA), DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 25 de maio de 2026, às 14h, no(a) Sala da Pós-Graduação, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de AMANDA PIVETA SCHNEPPER, intitulada "INTEGRATIVE MULTI-OMICS ANALYSIS REVEALS CODING AND NONCODING DRIVERS OF CANCER-ASSOCIATED CACHEXIA: A SYSTEMS-LEVEL STUDY ACROSS HUMANS AND ANIMAL MODELS". A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. ROBSON FRANCISCO CARVALHO (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Departamento de Biologia Estrutural e Funcional / UNESP / Câmpus de Botucatu - IBB, Prof. Dr. OTAVIO CABRAL MARQUES (Participação Virtual) do(a) Departamento de Medicina - Divisão de Medicina Molecular / Universidade de São Paulo - USP, Prof. Dr. RODRIGO JULIANI SIQUEIRA DALMOLIN (Participação Virtual) do(a) Departamento de Bioquímica / Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN, Professor Adjunto LUCAS LEITE CUNHA (Participação Presencial) do(a) Departamento de Medicina / Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo, Prof. Dr. ALEXANDRE ROSSI PASCHOAL (Participação Virtual) do(a) Rosalind Franklin Institute - UK, Após a exposição pela doutoranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: APROVADA . Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. ROBSON FRANCISCO CARVALHO

Dedicatória

À minha mãe, que está sempre comigo;

Ao meu pai, que sempre acreditou que eu seria cientista;

A todos aqueles que sofrem de doenças ainda sem cura.

Agradecimentos

À minha família, em especial minha mãe Sandra Regina Piveta, meu pai Robert Schnepfer e meu irmão Bruno Piveta Schnepfer, por estarem comigo em todos os momentos, desde sempre;

À Professora Mariza Boscacci Marques e ao Professor Marcelo Vicari, que a muitos anos atrás, acreditaram no meu sonho da carreira acadêmica, e me incentivaram a continuar;

Às minhas amigas Jakeline, Camila, Fabiana e Ana Luiza, que sempre seguraram minha mão, nos momentos bons e também nos difíceis;

A todo o CaCaO lab e companheiros de pesquisa: Afonso, Caio, Débora, Fernando, Iago, Isabeli, Jeferson, Luiza, Lurian, Maria Raquel, Maria Julia, Mateus, Stéphanie, Tainá, Vicente e Victória, por fazerem todos os dias especiais, por acreditarem em mim e dividirem esses quatro anos comigo;

Ao GOLD lab e ao Professor Rory Johnson, que me mostraram que o mundo dos lncRNAs é muito maior do que eu imaginava;

Aos colaboradores, em especial Professora Teresa Zimmers, Dr Daniel Runco e Professor Andrea Bonetto, pelos ensinamentos e por acreditarem no meu trabalho;

À Sarah Santiloni Cury, pela amizade e parceria desde a bancada até a bioinformática;

Ao meu co-orientador, Professor Geysson Garcia, pelas discussões científicas e colaborações;

Ao meu orientador, Professor Robson Francisco Carvalho, por todos os ensinamentos, conversas, colaborações e mentorias ao longo desses anos. Eu agradeço não somente pela orientação acadêmica, mas por acreditar em mim, me incentivar a crescer e a alcançar meus objetivos;

À todos os professores, técnicos e servidores, que contribuíram para que este trabalho fosse possível;

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Genética), ao Instituto de Biociências e à UNESP, pela estrutura acadêmica e pelas oportunidades oferecidas;

À CAPES, ao CNPq e à FAPESP (2022/06775-3 e 2023/15976-5), pelo financiamento.

Epigraph

“The important thing is not to stop questioning. Curiosity has its own reason for existence. One cannot help but be in awe when he contemplates the mysteries of eternity, of life, of the marvelous structure of reality. It is enough if one tries merely to comprehend a little of this mystery each day.”

Albert Einstein

Table of contents

Para divulgação científica e popularização da ciência	10
For science communication and public outreach	12
Resumo Geral	14
General Abstract.....	17
Chapter 1	19
The Untranslated Regulators of Cancer Cachexia: Functional Roles of Long Non-coding RNAs in Cancer-Induced Wasting.....	19
Abstract	20
Introduction.....	21
Regulatory Cellular and Molecular Mechanisms in Cachexia Progression	23
LncRNAs as Key Regulators in Signaling Pathways of Muscle Dynamics in Cancer Cachexia.....	25
Regulatory lncRNAs in Muscle Atrophy during Cancer-associated Cachexia.....	27
LncRNA-Mediated Regulation of Adipose Tissue in Cancer-associated Cachexia.....	30
Exosomal lncRNAs as Mediators of Cancer Cachexia-Related Tissue Wasting.....	30
Targeting lncRNAs as a Therapeutic Strategy for Cancer Cachexia	33
Future Perspectives on lncRNAs in Cancer Cachexia.....	35
Conclusions	36
Bibliography.....	38
Chapter 2.....	43
Pan-cancer landscape of lncRNAs reveals conserved cell identity-associated expression.....	43
References	49
Chapter 3.....	50
Machine Learning-Based Stratification of Cachexia Stages in a Murine Model Uncovers Multi-Tissue Transcriptomic Signatures	50

Abstract	51
Introduction.....	52
Methods.....	53
Results	56
Discussion	69
Limitation of the study	73
Conclusion.....	74
References	74

Chapter 4.....77

Multi-organ lncRNA dysregulation with tissue-specific cis-interactions in LLC-induced cancer cachexia.....77

Abstract	78
Introduction.....	79
Methods.....	80
Results	82
Discussion	94
Limitations	100
Conclusion.....	101
References	101

Chapter 5.....105

Serum Proteomic Profiling in Pediatric Oncology: Uncovering Cachexia Mediators During Cancer Treatment.....105

Abstract	106
Background	107
Methods.....	108
Results	111
Discussion	119
Targeted therapy	122
Limitations	123
Conclusions	123
References	124

Chapter 6.....127

Machine Learning–Driven Transcriptomic Analysis Identifies Complement-Associated Signatures in Visceral Adipose Tissue During Cancer Cachexia.....	127
Abstract	128
Introduction.....	129
Methodology	130
Results	132
Discussion	143
Conclusion.....	145
Bibliography.....	145
 Chapter 7	 148
 CaCaOdb: a comprehensive transcriptomic database for cancer-associated cachexia in humans and mice	 148
Abstract	149
Introduction.....	150
Methods.....	151
CaCaOdb Functionality	156
Exploring RNA-seq and Microarray Data in CaCaOdb.....	156
Visualizing scRNA-seq data in CaCaOdb.	157
Conclusions	158
Software registration	158
Bibliography.....	158
 General Conclusions	 160
 Appendix A.....	 162
 Additional Research Outputs.....	 162

Para divulgação científica e popularização da ciência

A caquexia associada ao câncer é uma síndrome grave que afeta muitos pacientes, causando perda de peso, fraqueza muscular, redução do tecido adiposo e alterações significativas no metabolismo. Essas mudanças comprometem a qualidade de vida, dificultam o tratamento do câncer e estão associadas ao aumento da mortalidade. Apesar de sua relevância clínica, ainda não compreendemos completamente como a caquexia se desenvolve e progride no organismo.

Esta pesquisa buscou compreender melhor os mecanismos envolvidos na caquexia associada ao câncer por meio da integração de diferentes tipos de dados biológicos, incluindo análises de genes, proteínas e alterações fisiológicas em humanos e em modelos experimentais de camundongos. Em vez de focar apenas em um órgão ou processo isolado, o estudo investigou a síndrome de forma sistêmica, considerando a interação entre diferentes tecidos e mecanismos biológicos.

Os resultados mostraram que a caquexia não é causada por um único fator, mas sim por um conjunto de alterações que ocorrem simultaneamente em diferentes partes do corpo. Essas mudanças envolvem inflamação, alterações no uso de energia, remodelamento dos tecidos e falhas na comunicação entre órgãos. Além disso, observamos que a síndrome se manifesta de forma muito variável entre indivíduos e ao longo do tempo, o que ajuda a explicar por que seu diagnóstico ainda é difícil e frequentemente tardio.

Entre os principais achados do trabalho, identificamos que os RNAs longos não codificadores (lncRNAs), moléculas que não produzem proteínas, mas ajudam a controlar o funcionamento dos genes, apresentam alterações importantes em diferentes tecidos durante a caquexia. Esses RNAs estiveram associados a processos ligados à inflamação, ao metabolismo e à progressão tumoral, indicando que podem atuar como reguladores da síndrome e possíveis biomarcadores.

Também demonstramos, por meio de modelos experimentais e de ferramentas computacionais e de aprendizado de máquina, que a progressão da caquexia varia significativamente entre indivíduos, mesmo quando submetidos às mesmas condições. Isso mostra que a síndrome não pode ser explicada apenas pelo tamanho do tumor ou pelo tempo de evolução do câncer, o que destaca limitações importantes dos modelos pré-clínicos atualmente utilizados.

Outro resultado importante foi a identificação do tecido adiposo visceral como participante ativo da caquexia. Nossas análises mostraram que esse tecido não atua apenas como reserva de energia, mas também participa das respostas inflamatória e imunológica. Moléculas do sistema do complemento (parte do sistema imunológico inato) foram associadas às alterações metabólicas e inflamatórias observadas na síndrome.

Na oncologia pediátrica, observamos que alterações relacionadas à inflamação e ao estresse metabólico persistem mesmo após meses de tratamento. Esses achados sugerem que os efeitos sistêmicos do câncer podem persistir a longo prazo em crianças e adolescentes, mesmo durante a terapia, reforçando a necessidade de acompanhamento contínuo desses pacientes.

Além das análises biológicas, contribuímos para o desenvolvimento do Cancer Cachexia Omics Database (CaCaOdb), uma plataforma pública que reúne dados moleculares de pacientes e modelos experimentais. O banco integra mais de 1.000 amostras transcriptômicas e cerca de um milhão de células únicas, permitindo que pesquisadores explorem alterações associadas à caquexia de forma integrada e acessível.

De forma geral, este trabalho reforça que a caquexia deve ser entendida como uma síndrome sistêmica, que envolve múltiplos órgãos, tecidos e mecanismos biológicos interligados. Compreender melhor essas alterações podem contribuir para o desenvolvimento de métodos de diagnóstico mais precoces e precisos, além de apoiar novas estratégias de cuidado e tratamento para pacientes com câncer.

For science communication and public outreach

Cancer-associated cachexia is a severe syndrome that affects many patients, leading to weight loss, muscle weakness, reduction in adipose tissue, and profound metabolic alterations. These changes compromise quality of life, hinder cancer treatment, and are associated with increased mortality. Despite its clinical relevance, the mechanisms underlying the development and progression of cachexia in the organism are still not fully understood.

This research aimed to better understand the mechanisms involved in cancer-associated cachexia by integrating different types of biological data, including gene expression, protein analyses, and physiological alterations in humans and experimental mouse models. Rather than focusing on a single organ or isolated process, the study investigated the syndrome in a systemic manner, considering the interactions between multiple tissues and biological mechanisms.

The results showed that cachexia is not driven by a single factor, but rather by a set of alterations that occur simultaneously across different parts of the body. These changes involve inflammation, alterations in energy utilization, tissue remodeling, and impaired inter-organ communication. In addition, we observed that the syndrome manifests with substantial variability between individuals and overtime, helping to explain why its diagnosis remains challenging and often delayed.

Among the main findings of this work, we identified that long non-coding RNAs (lncRNAs), molecules that do not encode proteins but help regulate gene function, show important alterations across multiple tissues during cachexia. These RNAs were associated with processes related to inflammation, metabolism, and tumor progression, suggesting that they may act as regulators of the syndrome and potential biomarkers.

We also demonstrated, using experimental models and computational and machine learning approaches, that cachexia progression varies significantly between individuals, even under the same experimental conditions. This indicates that the syndrome cannot be explained solely by tumor size or time of disease progression, highlighting important limitations of currently used preclinical models.

Another important result was the identification of visceral adipose tissue as an active participant in cachexia. Our analyses showed that this tissue does not function only as an energy storage site but also participates in inflammatory and immune responses.

Components of the complement system (part of the innate immune system) were associated with the metabolic and inflammatory alterations observed in the syndrome.

In pediatric oncology, we observed that inflammation- and metabolic stress-related alterations persist even after months of treatment. These findings suggest that the systemic effects of cancer may persist in the long term in children and adolescents, even during therapy, reinforcing the need for continuous clinical follow-up.

In addition to the biological analyses, we contributed to the development of the Cancer Cachexia Omics Database (CaCaOdb), a public platform that compiles molecular data from patients and experimental models. The database integrates more than 1,000 transcriptomic samples and approximately one million single cells, enabling researchers to explore cachexia-associated alterations in an integrated and accessible manner.

Overall, this work reinforces that cachexia should be understood as a systemic syndrome involving multiple interconnected organs, tissues, and biological mechanisms. A better understanding of these alterations may contribute to the development of earlier and more precise diagnostic methods, as well as support new strategies for patient care and cancer treatment.

Resumo Geral

A caquexia associada ao câncer é uma síndrome complexa e multifatorial, caracterizada por perda progressiva de peso, desregulação metabólica sistêmica e disfunção de múltiplos órgãos, comprometendo significativamente a sobrevida e a qualidade de vida de pacientes em contextos oncológicos, tanto adultos quanto pediátricos. Apesar dos avanços na compreensão da regulação de genes codificadores de proteínas, o panorama regulatório mais amplo, incluindo RNAs longos não codificadores (lncRNAs), proteínas circulantes e redes de comunicação entre tecidos, permanece apenas parcialmente compreendido.

Esta tese tem como objetivo identificar os mecanismos moleculares codificantes e não codificantes da caquexia associada ao câncer por meio de uma abordagem integrativa multiômica, em nível sistêmico, utilizando dados humanos e modelos experimentais.

Para isso, utilizamos dados de microarranjos, transcriptômica *bulk* e de célula única, proteômica e modelagem baseada em aprendizado de máquina para caracterizar o panorama multidimensional da caquexia. As análises integrativas revelaram que a caquexia é impulsionada por uma reprogramação molecular coordenada em nível sistêmico, envolvendo múltiplos tecidos, tipos celulares e camadas regulatórias. Em vez de uma via dominante única, a síndrome emerge como uma condição dinâmica e heterogênea, resultante da interação entre processos inflamatórios, metabólicos e de remodelamento tecidual, modulados por genes codificadores de proteínas e por RNAs longos não codificantes. Esses padrões moleculares variam conforme a gravidade da doença e o contexto biológico, sustentando a existência de programas dependentes do estágio e evidenciando as limitações de modelos uniformes de progressão da doença.

Este trabalho também destaca desafios importantes na área. A investigação sistêmica da caquexia é inerentemente complexa, uma vez que as alterações moleculares estão distribuídas entre diferentes órgãos e são influenciadas por redes de comunicação intertecidual difíceis de capturar isoladamente. Além disso, os modelos experimentais amplamente utilizados apenas reproduzem parcialmente a condição humana, limitando a aplicabilidade translacional direta e contribuindo para inconsistências entre os estudos. No âmbito clínico, as definições atuais de caquexia baseiam-se majoritariamente em populações adultas e não contemplam adequadamente a variabilidade associada à idade, à etnia, à composição corporal e ao estado metabólico basal. Essa falta de critérios inclusivos e precisos contribui para o subdiagnóstico e, com frequência, atrasa a detecção até estágios mais avançados da síndrome.

Nesse contexto, utilizando modelos experimentais de LLC, demonstramos que a progressão da caquexia apresenta elevada heterogeneidade biológica mesmo sob condições experimentais padronizadas, e propusemos uma classificação da severidade da síndrome baseada em aprendizado de máquina a partir de variáveis anatômicas associadas à perda de massa de tecido muscular e de tecido adiposo. Essa estratificação permitiu identificar assinaturas transcricionais tecido-específicas em múltiplos órgãos, incluindo mediadores previamente descritos e potenciais novos reguladores da caquexia, além de assinaturas de ligantes e receptores potencialmente associadas à comunicação intertecidual e à progressão da síndrome. A partir desse modelo, identificamos uma ampla disfunção sistêmica de lncRNAs em múltiplos tecidos afetados pela caquexia, com predomínio de transcritos com a expressão reduzida. Observamos ainda associações coordenadas desses lncRNAs com vias inflamatórias, metabólicas, catabólicas e de remodelamento tecidual, além de assinaturas conservadas relacionadas à identidade celular no microambiente tumoral. Em oncologia pediátrica, análises proteômicas revelaram persistência de vias inflamatórias e de estresse sistêmico mesmo após meses de tratamento, sugerindo efeitos metabólicos prolongados do câncer durante a terapia. Paralelamente, análises transcriptômicas em tecido adiposo visceral de pacientes com câncer gastrointestinal demonstraram ativação de vias imunometabólicas e do sistema do complemento, destacando moléculas como *C7*, *CFI* e *CFH* como potenciais mediadores da inflamação e da disfunção metabólica associadas à síndrome. Complementarmente, contribuimos para o desenvolvimento do *Cancer Cachexia Omics Database* (CaCaOdb), uma plataforma pública integrativa que reúne dados transcriptômicos bulk e de célula única de humanos e de modelos experimentais, ampliando a acessibilidade, a padronização e a reprodutibilidade de análises multiômicas em caquexia.

Em conjunto, esses achados sustentam um modelo no qual a caquexia associada ao câncer representa uma desregulação metabólica sistêmica progressiva, impulsionada por interações regulatórias em múltiplos níveis, e não apenas por eventos isolados específicos de tecidos. Dessa forma, este trabalho fornece uma visão abrangente e sistêmica da síndrome, integrando redes regulatórias codificantes e não codificantes entre diferentes tecidos, tipos celulares e estágios da caquexia. Nossos resultados expandem o conhecimento atual sobre vias e mediadores associados à síndrome, além de identificar potenciais novos reguladores moleculares e biomarcadores ainda pouco explorados, reforçando a necessidade de abordagens integrativas para aprimorar a caracterização biológica da caquexia e apoiar o desenvolvimento de estratégias diagnósticas e terapêuticas mais precisas. Adicionalmente, a melhor estratificação e caracterização molecular dos modelos experimentais pode contribuir para aumentar a reprodutibilidade e

a eficiência translacional de estudos pré-clínicos em caquexia. A longo prazo, esses avanços podem favorecer a detecção mais precoce da síndrome, o monitoramento clínico mais adequado e intervenções mais direcionadas, com potencial impacto na resposta ao tratamento oncológico, na qualidade de vida e no bem-estar dos pacientes.

General Abstract

Cancer-associated cachexia is a complex and multifactorial syndrome characterized by progressive weight loss, systemic metabolic dysregulation, and multi-organ dysfunction, significantly compromising survival and quality of life in oncological patients, both in adult and pediatric contexts. Despite advances in understanding the regulation of protein-coding genes, the broader regulatory landscape, including long non-coding RNAs (lncRNAs), circulating proteins, and inter-tissue communication networks, remains only partially understood.

This thesis aimed to identify coding and non-coding molecular mechanisms underlying cancer-associated cachexia through a multi-omics, integrative, and systems-level approach, using both human data and experimental models.

To this end, we employed microarray data, bulk and single-cell transcriptomics, proteomics, and machine learning-based modeling to characterize the multidimensional landscape of cachexia. Integrative analyses revealed that cachexia is driven by coordinated molecular reprogramming at the systemic level, involving multiple tissues, cell types, and regulatory layers. Rather than being governed by a single dominant pathway, the syndrome emerges as a dynamic and heterogeneous condition resulting from the interaction of inflammatory, metabolic, and tissue-remodeling processes, modulated by both protein-coding genes and long non-coding RNAs. These molecular patterns vary according to disease severity and biological context, supporting the existence of stage-dependent programs and highlighting the limitations of uniform models of disease progression.

This work also underscores important challenges in the field. The systemic investigation of cachexia is inherently complex, as molecular alterations are distributed across multiple organs and shaped by inter-tissue communication networks that are difficult to capture in isolation. Furthermore, widely used experimental models only partially recapitulate the human condition, limiting direct translational applicability and contributing to inconsistencies across studies. From a clinical perspective, current definitions of cachexia are largely based on adult populations and do not adequately account for variability related to age, ethnicity, body composition, and baseline metabolic state. This lack of inclusive and precise criteria contributes to underdiagnosis and frequently delays detection until advanced stages of the syndrome.

Within this context, using Lewis lung carcinoma (LLC) experimental models, we demonstrated that cachexia progression exhibits substantial biological heterogeneity even

under standardized conditions, and we proposed a machine-learning–based classification of disease severity based on anatomical variables associated with muscle and adipose tissues wasting. This stratification enabled the identification of tissue-specific transcriptional signatures across multiple organs, including previously described mediators and putative novel regulators of cachexia, as well as ligand–receptor signatures potentially associated with inter-tissue communication and disease progression. Building on this framework, we identified widespread systemic dysregulation of lncRNAs across cachexia-affected tissues, characterized predominantly by reduced expression. These lncRNAs showed coordinated associations with inflammatory, metabolic, catabolic, and tissue-remodeling pathways, as well as conserved signatures linked to cellular identity within the tumor microenvironment.

In pediatric oncology, proteomic analyses revealed persistent activation of inflammatory and systemic stress-related pathways even after several months of treatment, suggesting prolonged metabolic effects of cancer during therapy. In parallel, transcriptomic analyses of visceral adipose tissue from patients with gastrointestinal cancer demonstrated activation of immunometabolic pathways and the complement system, highlighting molecules such as *C7*, *CFI*, and *CFH* as potential mediators of inflammation and metabolic dysfunction associated with the syndrome. Complementarily, we contributed to the development of the Cancer Cachexia Omics Database (CaCaOdb), a publicly available integrative platform that compiles bulk and single-cell transcriptomic data from both humans and experimental models, improving accessibility, standardization, and reproducibility of multi-omics analyses in cachexia research.

Together, these findings support a model in which cancer-associated cachexia represents a progressive systemic metabolic dysregulation driven by multilevel regulatory interactions, rather than isolated tissue-specific events. Accordingly, this work provides a comprehensive systems-level view of the syndrome, integrating coding and non-coding regulatory networks across tissues, cell types, and disease stages. Our results expand current knowledge of cachexia-associated pathways and mediators, identify previously underexplored molecular regulators and potential biomarkers, and reinforce the need for integrative approaches to improve its biological characterization and support the development of more precise diagnostic and therapeutic strategies. Additionally, improved stratification and molecular characterization of experimental models may enhance reproducibility and translational efficiency in preclinical research on cachexia. In the long term, these advances may facilitate earlier detection of the syndrome, more accurate clinical monitoring, and more targeted interventions, with the potential to impact treatment response, quality of life, and overall patient well-being.

Bibliography

1. Fearon, K. *et al.* Definition and classification of cancer cachexia: An international consensus. *Lancet Oncol* **12**, 489–495 (2011).
2. Anker, M. S. *et al.* Orphan disease status of cancer cachexia in the USA and in the European Union: a systematic review. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* **10**, 22–34 (2019).
3. Tsoli, M. & Robertson, G. Cancer cachexia: Malignant inflammation, tumorkines, and metabolic mayhem. *Trends in Endocrinology and Metabolism* **24**, 174–183 (2013).
4. Evans, W. J. *et al.* Cachexia: A new definition. *Clinical Nutrition* **27**, 793–799 (2008).
5. Lim, S., Brown, J. L., Washington, T. A. & Greene, N. P. Development and progression of cancer cachexia: Perspectives from bench to bedside. *Sports Medicine and Health Science* **2**, 177–185 (2020).
6. Freire, P. P. *et al.* The expression landscape of cachexia-inducing factors in human cancers. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* **11**, 947–961 (2020).
7. Twelkmeyer, B., Tardif, N. & Rooyackers, O. Omics and cachexia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **20**, 181–185 (2017).
8. Argilés, J. M., Stemmler, B., López-Soriano, F. J. & Busquets, S. Inter-tissue communication in cancer cachexia. *Nat Rev Endocrinol* **15**, 9–20 (2018).
9. Almugren, N. & Alshamlan, H. A Survey on Hybrid Feature Selection Methods in Microarray Gene Expression Data for Cancer Classification. *IEEE Access* **7**, 78533–78548 (2019).
10. Moncada, R. *et al.* Integrating microarray-based spatial transcriptomics and single-cell RNA-seq reveals tissue architecture in pancreatic ductal adenocarcinomas. *Nat Biotechnol* **38**, 333–342 (2020).

11. Peng, J. *et al.* Single-cell RNA-seq highlights intra-tumoral heterogeneity and malignant progression in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cell Res* **29**, 725–738 (2019).
12. Carvalho, R. F. *et al.* Single-cell and bulk RNA sequencing reveal ligands and receptors associated with worse overall survival in serous ovarian cancer. *Cell Communication and Signaling* **20**, (2022).
13. Argilés, J. M., López-Soriano, F. J., Stemmler, B. & Busquets, S. Cancer-associated cachexia — understanding the tumour macroenvironment and microenvironment to improve management. *Nature Reviews Clinical Oncology* vol. 20 250–264 Preprint at <https://doi.org/10.1038/s41571-023-00734-5> (2023).

General Conclusions

In conclusion, this work demonstrates that cancer-associated cachexia is a complex, systemic, and highly heterogeneous syndrome driven by coordinated molecular interactions across multiple tissues, cellular populations, and disease contexts. Through the integration of transcriptomic, proteomic, computational, and machine learning approaches, this study expands the current understanding of the molecular mechanisms underlying cachexia progression and highlights the importance of studying the syndrome beyond skeletal muscle wasting alone.

A central contribution of this work is the characterization of long non-coding RNAs (lncRNAs) as key components of the cachexia-associated transcriptional landscape. Across multiple tissues and cancer contexts, lncRNAs exhibited highly structured and cell-type-specific expression patterns associated with inflammation, metabolism, extracellular matrix remodeling, immune regulation, and tissue dysfunction. The identification of conserved and tissue-specific lncRNA signatures reinforces their potential as biomarkers and therapeutic targets, while also emphasizing the importance of considering tumor microenvironment composition and systemic inter-organ communication in transcriptomic analyses.

This study also demonstrates that cachexia progression involves coordinated yet tissue-specific molecular programs associated with inflammatory activation, proteolysis, metabolic dysregulation, mitochondrial dysfunction, and extracellular matrix remodeling. By integrating multi-tissue analyses with machine learning-based stratification, this work provides objective frameworks to better define disease severity and molecular heterogeneity in preclinical models, helping bridge an important gap between experimental systems and clinical complexity.

Importantly, this work extends the investigation of cachexia-related mechanisms to understudied contexts, including pediatric cancer and adipose tissue remodeling. Proteomic analyses in pediatric patients revealed dynamic systemic alterations associated with tumor burden and treatment response, highlighting persistent physiological stress even after chemotherapy initiation and underscoring the need for longitudinal studies focused on survivorship and metabolic dysfunction in children with cancer. In adipose tissue, the identification of complement-associated pathways and key regulators linked to weight loss reinforces the role of chronic inflammation and immune-metabolic imbalance in cachexia pathophysiology.

Beyond mechanistic discoveries, this work also contributes to the advancement of research infrastructure in the field through the development of CaCaOdb, a curated and standardized database designed to facilitate access to molecular data related to cancer-associated cachexia. By organizing and integrating publicly available datasets, this resource supports reproducibility, accelerates hypothesis generation, and promotes future translational research.

Collectively, the findings presented in this work reinforce the value of integrative multi-omics and data-driven approaches for understanding the biological complexity of cancer-associated cachexia. Although important challenges remain, including the limited representation of disease diversity in current experimental models and the need for functional validation of molecular candidates, this study provides a comprehensive framework for future investigations aimed at improving diagnosis, patient stratification, biomarker discovery, and therapeutic development. Ultimately, these advances contribute to a more systemic and personalized understanding of cachexia and may support the development of strategies capable of improving outcomes and quality of life for patients with cancer.