

Tiago Manuel Rufino Gomes

Caquexia Oncológica:  
como modular a sua progressão

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da saúde

Porto, 2018



Caquexia Oncológica: como modular a sua progressão

Tiago Manuel Rufino Gomes

**Caquexia Oncológica:  
como modular a sua progressão**

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da saúde

Porto, 2018

Caquexia Oncológica: como modular a sua progressão

Tiago Manuel Rufino Gomes

Caquexia Oncológica:  
como modular a sua progressão

---

(Tiago Manuel Rufino Gomes)

Trabalho Complementar apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau de licenciado em Ciências da Nutrição

Orientadoras:

*Dr.<sup>a</sup> Sónia Cabral*  
*Prof. Doutora Cláudia Silva*

## Resumo

A fisiopatologia da caquexia é bastante complexa, sendo necessário um consenso sobre a definição e os critérios específicos para descrever adequadamente a caquexia associada ao cancro. A melhor compreensão da fisiopatologia a nível pré-clínico é vital para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas, sendo os ensaios clínicos necessários para a compreensão do verdadeiro papel dessas intervenções no doente oncológico. A alimentação *per se* não reverte significativamente a perda ponderal e parece evidente que as alterações metabólicas em doentes oncológicos contribuem para o desenvolvimento da caquexia. Perante isto, o desenvolvimento de diferentes abordagens terapêuticas tem-se focado na reversão do catabolismo e aumento do anabolismo no doente oncológico com recurso a suplementação.

O metabolito da leucina, B-hidroxi-B-metilbutirato (HMB), exhibe um potencial efeito anti-catabólico e tem recebido a atenção da comunidade científica enquanto suplemento aplicado em quadros de caquexia. Este composto tem sido proposto como responsável pelos efeitos induzidos da leucina na síntese proteica a nível muscular.

Neste trabalho, pretendemos abordar a definição clínica e relevante da caquexia no doente oncológico, os processos metabólicos inerentes à presença tumoral/estímulo caquético e o seu impacto no *turnover* proteico muscular, e de que forma é que o HMB poderá contribuir para a modulação da progressão da caquexia no doente oncológico.

Fez-se uma revisão da literatura, com recurso à base de dados PUBMED e COCHRANE LIBRARY, entre 2005 até 2018, utilizando as palavras chave “HMB ou beta-hidroxy-beta-methylbutyrate” AND “cancer cachexia” ou “cachexia” AND “wasting” AND “metabolism”.

A fisiopatologia da caquexia oncológica é complexa, confirmando que se caracteriza por uma síndrome multifatorial, influenciada pela presença de citocinas inflamatórias, anorexia, aumento da proteólise, diminuição da capacidade de síntese proteica, impulsionada por alterações nas vias de ação inerentes a cada processo. A administração isolada de HMB ou a sua combinação com outros nutrientes pode representar uma ação segura e eficaz na prevenção da perda de massa muscular na caquexia oncológica. Estudos sugerem que o HMB reduz o crescimento tumoral, no entanto, o mecanismo responsável por este efeito não é claro e merece mais investigação.

**Palavras chave:** “Beta-hidroxi-Beta-metilbutirato”, “caquexia oncológica”, “perda ponderal”, “metabolismo”

## **Abstract**

The pathophysiology of cachexia is quite complex, requiring a consensus on the definition and specific criteria to adequately describe cachexia associated with cancer. A better understanding of pre-clinical pathophysiology is vital for the development of therapeutic strategies, and clinical trials are necessary to understand the true role of these interventions in cancer patients. Feeding per se does not significantly reverse weight loss and it seems clear that metabolic changes in cancer patients contribute to the development of cachexia. In view of this, the development of different therapeutic approaches has focused on the reversal of catabolism and anabolism increase in cancer patients with supplementation.

The leucine metabolite, B-hydroxy-B-methylbutyrate (HMB), exhibits a potential anti-catabolic effect and has received the attention of the scientific community as a supplement applied to cachexia. This compound has been proposed as responsible for the induced effects of leucine on muscle protein synthesis.

In this work, we intend to address the clinical and relevant definition of cachexia in cancer patients, the metabolic processes inherent to tumor presence / cachectic stimulus and their impact on muscle protein turnover, and how HMB may contribute to the modulation of progression of cachexia in cancer patients.

A review of the literature was made using the PUBMED and COCHRANE LIBRARY database between 2005 and 2018 using the keywords "HMB or beta-hydroxy-beta-methylbutyrate" AND "cancer cachexia" and "cachexia" wasting "AND" metabolism".

The pathophysiology of oncologic cachexia is complex, confirming that it is characterized by a multifactorial syndrome, influenced by the presence of inflammatory cytokines, anorexia, increased proteolysis, decreased protein synthesis capacity, driven by changes in the pathways inherent to each process. Isolated administration of HMB or its combination with other nutrients may represent a safe and effective action in preventing loss of muscle mass in oncological cachexia. Studies suggest that HMB reduces tumor growth, however, the mechanism responsible for this effect is unclear and deserves further investigation.

**Key words:** "Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate", "oncological cachexia", "weight loss", "metabolism"

### **Agradecimentos**

Em especial aos meus pais porque sem eles nada disto seria possível.

Ao meu irmão, amigos e família, pela paciência, pelo apoio e carinho, que compreenderam sempre os meus momentos de ausência.

Um especial agradecimento à minha Orientadora Dr.<sup>a</sup> Sónia Cabral pelo acompanhamento, experiência e conhecimentos partilhados, mas também, e não menos importante à minha Coorientadora Professora Doutora Cláudia Silva, por toda a disponibilidade, atenção, acompanhamento e confiança ao longo de todo o meu percurso académico.

“O acaso só favorece a mente preparada”

*Louis Pasteur.*

## Índice

1.	Introdução .....	15
1.1.	Metodologia .....	16
2.	Revisão Bibliográfica: resultados .....	18
2.1.	Caquexia no Doente oncológico .....	18
2.1.1.	Caracterização .....	18
2.1.2.	Pré caquexia, Caquexia, Caquexia Refratária .....	18
2.1.3.	Prevalência e incidência/ perda ponderal e taxa de sobrevivência .....	19
2.1.4.	Fisiopatologia .....	20
2.2.	Potenciadores caquetizantes .....	20
2.2.1.	Citoquinas .....	20
2.2.2.	Anorexia/Desregulação da Leptina .....	21
2.3.	Mecanismos moleculares/vias de sinalização que levam à atrofia da massa muscular aquando da presença tumoral .....	22
2.3.1.	Sinalização IGF-1-PI3k-AKT-mTOR/FOXO .....	23
2.3.2.	Via Ubiquitina-proteossoma/NF-kB/PIF .....	24
	B-hidroxi-B-metilbutirato (HMB) .....	26
2.3.3.	Caracterização .....	26
2.3.4.	HMB – Potenciais vias de ação na síntese proteica e proteólise .....	27
2.4.	Estudos clínicos e pré-clínicos do potencial efeito do HMB na síntese proteica e proteólise .....	29
2.4.1.	<i>In vitro</i> .....	29
2.4.2.	<i>In vivo</i> animais .....	29
2.4.3.	<i>In vivo</i> humanos .....	30
3.	Conclusão .....	30
4.	Referências bibliográficas .....	31

**Índice de Figuras**

**Figura 1.** Fluxograma da seleção de artigos em que se baseia esta revisão da literatura ..... 17

**Figura 2.** Fases inerentes à síndrome da caquexia associada ao doente oncológico .... 19

**Figura 3.** Mecanismos e marcadores moleculares que controlam o *turnover* proteico .23

**Figura 4.** Mecanismos moleculares/vias de ação que controlam o *turnover* proteico e potenciais vias de ação do HMB ..... 28

## Lista de Abreviaturas

- IMC**- Índice de massa corporal
- TNF-alfa**- *Tumor necrosis factor alfa* (do português: Fator de necrose tumoral alfa)
- IL-1b**- *Interleukin 1 Beta* (do português: Interleucina 1 beta)
- IL-6**- *Interleukin 6* (do português: Interleucina 6)
- IFN-γ**- *Interferon gama* (do português: Interferão gama)
- UPP**- *Ubiquitin proteasome pathway* (do português: Via da ubiquitina proteossoma)
- IL-4**- *Interleukin 4* (do português: Interleucina 4)
- IL-5**- *Interleukin 5* (do português: Interleucina 5)
- IL-12**- *Interleukin 12* (do português: Interleucina 12)
- ZAG**- *Zinc alpha 2-glycoprotein* (do português: Glicoproteína zinco alfa-2)
- PI3K**- *Phosphoinositide 3-kinase* (do português: Fosfoinosítide 3 cinase)
- PKB/AKT**- *Protein Kinase B* (do português: Proteína cinase B)
- mTOR**- *Mammalian target of rapamycin* (do português: alvo mamífero da rapamicina)
- IGF-1**- *Insulin-like growth factor 1* (do português: Fator de crescimento 1 da insulina)
- FOXO**- *Forkhead family*
- FOXO1**- *Forkhead box O1*
- FOXO3**- *Forkhead box O3*
- NF-κB**- *Nuclear factor κB* (do português: Factor nuclear kappa B)
- MYO-D**- *Myogenic differentiation* (do português: Diferenciação miogénica)
- MURF-1**- *Muscle RING-finger protein-1*
- MAFbx/atrogen-1**- *Atrogen-1* (do português: Atrogenina 1)
- PIF**- *Proteolysis inducing factor* (do português: Fator de indução da proteólise)
- eIF2-a**- *Eukaryotic initiation factor 2 alpha* (do português: Fator de iniciação eucariótico 2 alfa)
- PKR**- *Protein Kinase R* (do português: Proteína cinase R)
- HMB**- *B-Hydroxy-B-methylbutyrate* (do português: B-hidroxi-B-metilbutirato)
- Alpha-KIC**- *Alpha ketoisacaproic acid* (do português: alfa-cetoisocaproato)
- HMG-Coa**- *B-hidroxy-B-methyl-glutaryl-CoA* (do português: B-hidroxi-B-metil-glutaril-CoA)
- BCKD**- *Branched chain ketoacid dehydrogenase* (do português: cetoácido desidrogenase de cadeia ramificada)
- ARG**- *Arginine* (do português: Arginina)

**GLN-** *Glutamine* (do português: Glutamina)

**SIDA-** Síndrome da imunodeficiência adquirida

**ANG II-** *Angiotensin II* (do português: Angiotensina II)

**LPS-** *Lipopolysacharides* (do português: Lipopolissacraídeos)

**P70s6K-** *70 KDa ribossomal S6 kinase*

**eEF2-** *Eukaryotic elongation factor 2* (do português: Fator de alongação eucariótico 2)

**4E-BP1-** *4E-Binding protein*

**eIF4E-** *Eukaryotic Initiation Factor 4E* (do português: Fator de iniciação eucariótico 4E)

**PKC-** *Protein Kinase C* (do português: Proteína cinase C)

**IκB-** *Inhibitor of kappa B* (do português: Inibidor do κB)

**eIF4G** – *Eukaryotic Initiation Factor 4G* (do português: Fator de iniciação eucariótico 4G)

**Caquexia Oncológica: como modular a sua progressão**

Tiago Rufino Gomes<sup>1</sup>; Cláudia Silva<sup>1</sup>; Sónia Cabral<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa

<sup>2</sup>Instituto Português de Oncologia do Porto

**Autor para correspondência:**

Tiago Manuel Rufino Gomes

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa (Ciências da Nutrição)

Rua Carlos da Maia, 296 | 4200 – 150 Porto

Tel. +351 225071300; E-mail: 28300@ufp.edu.pt

**Título resumido:** Caquexia Oncológica: como modular a sua progressão

**Contagem de palavras:**

**Número de Figuras:** 4

**Número de referências bibliográficas:** 52

**Conflitos de interesse:** Nada a declarar

## 1. Introdução

Foi Charles Butterworth [1] que, em 1974 que referiu pela primeira vez a pouca atenção prestada ao estado nutricional dos doentes hospitalizados, particularmente durante recuperação de quadros clínicos de doença aguda ou ferimentos, alegando que é imperativo assegurar que quadros de desnutrição evitáveis não contribuam para o aumento da mortalidade, da morbidade, do tempo de internamento e consequente aumento dos custos hospitalares.

Os doentes oncológicos constituem um grupo de risco para a desnutrição, conferida tanto pelos processos fisiopatológicos, bem como pela agressividade dos tratamentos administrados. A colmatação dos défices nutricionais associados a estes doentes nem sempre é abordada de forma eficaz. De facto, estima-se que, a nível europeu, apenas 30 a 60% dos doentes oncológicos com risco de desnutrição recebam efetivamente um suporte nutricional adequado através da suplementação oral e/ou nutrição parentérica e/ou entérica [2].

No cancro, a definição de malnutrição passa pela condição resultante da ativação da inflamação sistémica subjacente ao mesmo, e esta resposta inflamatória pode resultar em quadros de anorexia que, por sua vez, podem resultar numa perda ponderal acentuada e na alteração da composição corporal, culminando na diminuição da capacidade física e motora [2]. Além da perda ponderal é frequente que os doentes oncológicos, padeçam concomitantemente de outros problemas relevantes a nível clínico e nutricional, como a perda da massa muscular esquelética e resistência à insulina [3]. Evidências científicas, apontam para a degradação proteica como consequência da estimulação catabólica, neste tipo doentes, levando à atrofia muscular. Estas comorbilidades descrevem um cenário reconhecido, por caquexia [3].

A fisiopatologia da caquexia é bastante complexa, sendo necessário um consenso sobre a definição e os critérios específicos para descrever adequadamente a caquexia associada ao cancro [4]. A compreensão da fisiopatologia a nível pré-clínico é vital para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas, e a realização de ensaios clínicos permitirá avaliar o papel dessas intervenções nos doentes oncológicos [5].

Tem vindo a ser comprovado que a alimentação *per se*, não reverte significativamente a perda ponderal e parece evidente que as alterações metabólicas presentes nos doentes oncológicos contribuem para o desenvolvimento da caquexia.

Perante isto, o desenvolvimento de diferentes abordagens terapêuticas tem-se focado na reversão do catabolismo e aumento do anabolismo no doente oncológico [6], com recurso a suplementação.

O metabolito da leucina, B-hidroxi-B-metilbutirato (HMB), exhibe um potencial anti-catabólico e tem recebido a atenção da comunidade científica enquanto suplemento em quadros de caquexia. Este composto tem sido proposto como responsável pelos efeitos induzidos pela leucina na síntese proteica a nível muscular. Vários estudos pré-clínicos em atrofia muscular induzida pela caquexia reportam que a administração do HMB atenua a perda de massa muscular ao diminuir a degradação proteica ao aumentar consequentemente a síntese [6].

Neste trabalho, pretendemos abordar a definição clínica e relevante da caquexia no doente oncológico, os processos metabólicos inerentes à presença tumoral/estímulo caquético e o seu impacto no *turnover* proteico muscular, e de que forma é que o HMB poderá contribuir para a modulação da progressão da caquexia no doente oncológico.

### **1.1. Metodologia**

Tratando-se de uma revisão da literatura, efetuou-se uma pesquisa bibliográfica com recurso à base de dados PUBMED e COCHRANE LIBRARY. As palavras chave utilizadas foram “HMB ou beta-hidroxy-beta-methylbutyrate” AND “cancer cachexia” ou “cachexia” AND “wasting” AND “metabolism”.

Com a presente dissertação, objetiva-se: 1. Abordar a definição clínica e relevante da caquexia oncológica, 2. Abordar os processos metabólicos inerentes à presença tumoral/estímulo caquético e o seu impacto no *turnover* proteico muscular, 3. De que forma o HMB poderá contribuir para a modulação da progressão da caquexia oncológica.

Os critérios de inclusão foram publicações científicas escritas na língua inglesa, *full text* e datados de 2005 até 2018. Os critérios de exclusão foram publicações que se afastavam da abordagem singular da caquexia oncológica ou que não foram considerados relevantes para o enriquecimento teórico desta revisão. Apresento na figura 1, o fluxograma da seleção de artigos em que se baseia esta revisão da literatura.

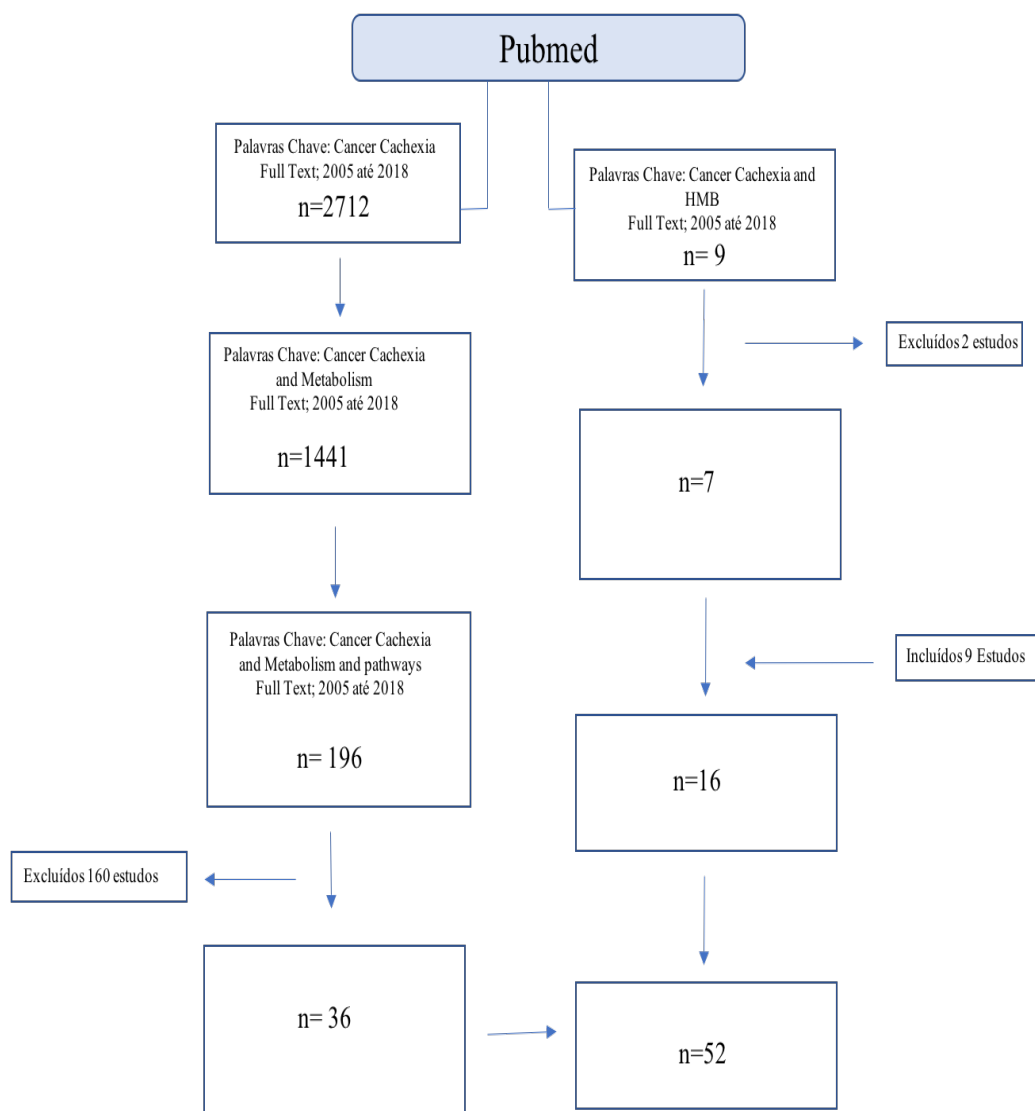


Figura 1. Fluxograma da seleção de artigos em que se baseia esta revisão da literatura

## 2. Revisão Bibliográfica: resultados

### 2.1. Caquexia no Doente oncológico

#### 2.1.1. Caracterização

Em termos etimológicos a palavra caquexia, deriva do grego *kakos* e *hexia* significando ‘má condição’ e tem sido bastante reconhecida como uma comorbilidade de vários tipos de neoplasias [7-10].

Várias definições da caquexia têm sido publicadas, assim como *guidelines* para auxílio do diagnóstico da mesma no que se refere ao cancro. Num consenso formal, Fearon *et al* [11], baseando-se numa definição genérica proposta por Evans *et al* em 2008 [12, 13] classifica a caquexia no doente oncológico como, um síndrome multifatorial, que engloba a perda involuntária de massa muscular, com, ou sem, perda de massa gorda, que não pode ser inteiramente revertida pelo suporte nutricional convencional levando a uma perda progressiva da capacidade funcional [4, 5, 8, 11, 13-20].

#### 2.1.2. Pré caquexia, Caquexia, Caquexia Refratária

Segundo Fearon *et al* [11], a caquexia *per se*, engloba três estadios clínicos, a pré-caquexia, a caquexia e a caquexia refratária (figura 2), sendo que não é imperativo os doentes oncológicos atravessarem as três fases. Na pré-caquexia, são observados os primeiros sinais clínicos e metabólicos, tais como anorexia e diminuição da tolerância à glicose que antecedem uma perda ponderal involuntária  $\leq 5\%$ . Doentes com uma perda ponderal igual ou superior a 5% ao longo de 6 meses, ou um índice de massa corporal (IMC) inferior a 20 Kg/m<sup>2</sup> e uma perda ponderal subjacente superior a 2%, ou um doente com sarcopenia com uma perda ponderal subjacente superior a 2%, mas que ainda não se incluem na caquexia refratária, são caracterizados com caquexia. Já a caquexia refratária, é um resultado de uma neoplasia num estadio já avançado, ou da presença de uma ausência de resposta aos tratamentos. Esta fase, é caracterizada por um aumento do catabolismo ou a presença de fatores que tornem a manutenção do peso inacessível.

O risco de progressão, varia em função do tipo de neoplasia, do seu estadio, da presença de inflamação sistémica e da resposta aos tratamentos [8, 11].

## Caquexia Oncológica: como modular a sua progressão

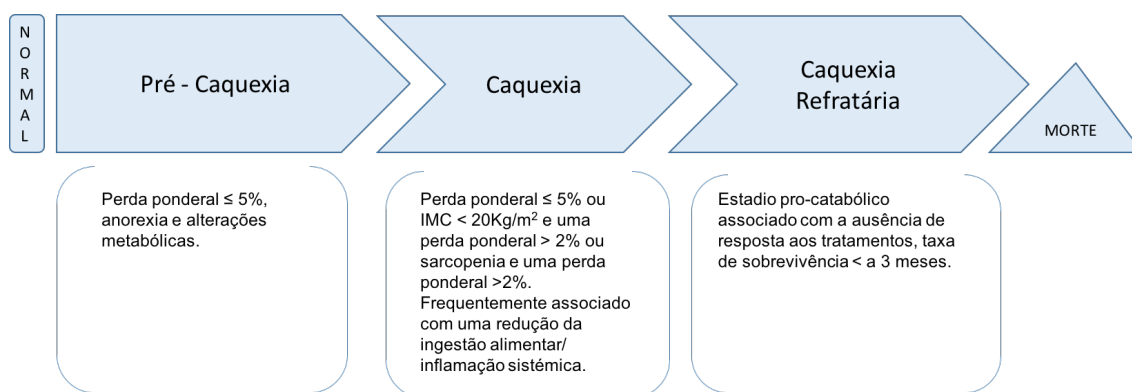


Figura 2. Fases inerentes ao síndrome da caquexia associada ao doente oncológico, adaptado de Fearon *et al* [11].

### 2.1.3. Prevalência e incidência/ perda ponderal e taxa de sobrevivência

A caquexia afeta entre 50 a 80% [9, 21-25], de todos os doentes oncológicos, e as consequências são acentuadas tanto na diminuição da capacidade funcional, qualidade de vida, resposta aos tratamentos como na taxa de sobrevivência [11, 21]. A caquexia oncológica é mais prevalente nas neoplasias a nível gástrico e pancreático (~85%), seguido do cancro do pulmão (~57%) e posteriormente a nível do colon (~54%) [26]. Já a incidência varia em função do tipo de tumor, sendo concomitante com a prevalência, mais elevada nos doentes oncológicos com neoplasias pancreáticas ou gástricas (83 – 85%) [27].

A caquexia oncológica tem sido reportada como responsável por, pelo menos 20 a 30% das mortes relacionadas com o cancro [9, 15, 19, 23, 24, 26, 28]. Estima-se que cerca de 50% dos doentes oncológicos morrem com a presença de caquexia [15].

A perda ponderal progressiva, terá um impacto negativo na taxa de sobrevivência do doente oncológico. Estudos publicados [4, 5, 29], afirmam que uma diminuição na taxa de sobrevivência em doentes oncológicos com perda ponderal progressiva e presença de caquexia. O estudo de Martin *et al* [30], com uma amostra considerável de 8160 doentes oncológicos, no Canadá e Europa, já num estágio avançado da doença reportou que 73% dos doentes apresentavam perda ponderal involuntária, assim como uma relação direta com a taxa de sobrevivência independentemente do estadio e tipo de neoplasia [29]. A perda da capacidade de manter o peso, mesmo com uma perda subtil de 2,4 % está significativamente relacionada com a diminuição da taxa de sobrevivência, o que confirma a proposta da definição de pré-caquexia apresentada por Fearon *et al*. Este

sistema de “classificação” apresentado por Martin e colaboradores [30], foi validado e incluído nas *guidelines* de prática clínica internacionais atuais [4].

#### **2.1.4. Fisiopatologia**

A fisiopatologia é caracterizada essencialmente pelo balanço energético e proteico negativo, combinado com a redução da ingestão e alterações metabólicas [14, 15, 18, 31]. De um modo geral, quatro fatores levam ao desenvolvimento da caquexia, a desregulação metabólica, o aumento da proteólise e da lipólise, a diminuição da absorção de nutrientes e a desregulação do apetite. Estes fatores, levam a um balanço energético negativo e consequentemente a uma perda de massa muscular [27].

Tem-se vindo a demonstrar uma correlação entre marcadores moleculares de inflamação sistémica e perda ponderal em doentes oncológicos. Estudos recentes demonstram uma ligação entre a elevação desses marcadores e a diminuição da qualidade de vida e da taxa de sobrevivência em doentes com caquexia [27].

Tanto os fatores tumorais, como a resposta fisiológica por parte do hospedeiro aos mesmos, levam ao aumento da expressão e libertação de citocinas pró-inflamatórias, tais como fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), interleucina 1 beta (IL-1b) e interleucina 6 (IL-6) [27].

### **2.2. Potenciadores caquetizantes**

#### **2.2.1. Citoquinas**

As citocinas que têm sido implicadas como mediadores da caquexia são o TNF-alfa, IL-1b, IL-6 e interferão gama (IFN- $\gamma$ ) [13, 22, 26, 28, 32-34], e a atividade das mesmas aumenta aquando da progressão do cancro [33]. Um estudo em doentes com cancro gastro-esofágico demonstrou que a concentração de TNF-alfa, IL-6 e IL-1b é significativamente elevado no tecido tumoral [7]. Estas citocinas desempenham um papel importante quando diretamente produzidas pelo cancro e pelo ambiente tumoral [15].

A interação do TNF-alfa e da IL-1b com diversas moléculas levam à supressão do apetite a nível do hipotálamo, já a elevação de IL-6 no plasma está correlacionada com a caquexia oncológica, fadiga associada ao cancro, desnutrição e diminuição da taxa de sobrevivência de doentes com neoplasia do pulmão [27], sendo que White *et al* [35],

demonstrou claramente a nível mitocondrial o papel da IL-6 na massa muscular associando-a também ao crescimento tumoral [18].

Estudos apontam para que na caquexia, a ação conjunta de múltiplas citocinas e outros mediadores foram responsáveis pela atrofia muscular [36], contribuindo ainda para o aumento do catabolismo ao ativar a via proteolítica ubiquitina-proteossoma (UPP) [27].

Efeitos catabólicos podem ser proporcionados também pela ausência de insulina, a mesma opõe-se aos efeitos catabólicos dos corticoides e a ausência da mesma em roedores, contribui para a atrofia da massa muscular [36]. É necessária uma sensibilidade normal à insulina para o anabolismo muscular no período pós-prandial. A relação entre a insulina e os aminoácidos estimula a síntese proteica, a nível muscular, e inibe a proteólise. Porém a resistência à insulina tem vindo a ser observada em vários modelos pré-clínicos em humanos com caquexia [37].

As citocinas TNF- $\alpha$  e IL-6 têm vindo a ser implicadas nesta resistência [7].

### **2.2.2. Anorexia/Desregulação da Leptina**

Mais de 50% dos doentes oncológicos relata ter falta de apetite [34, 37], que pode advir da caquexia e dos tratamentos inerentes ao estado clínico em questão [37], a mesma, aparece acoplada geralmente com anorexia, tendo como base o desequilíbrio entre citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN- $\gamma$ ) e citocinas anti-inflamatórias interleucina 4 (IL-4), interleucina 5 (IL-5), interleucina 12 (IL-12) [7, 33].

As citocinas pró-inflamatórias acima descritas, são transportadas através da barreira hematoencefálica e interagem com as células endoteliais, levando à libertação de substâncias que vão afetar o apetite [8, 33], assim como impulsionar o processo de proteólise e lipólise [18, 36]. A lipólise, é também impulsionada pelo tumor e hospedeiro devido ao fator de mobilização lipídica glicoproteína-zinco-alfa 2 (ZAG) que sensibiliza os adipócitos a estímulos lipolíticos, apresentando uma expressão aumentada na caquexia [7], porém a deficiência da produção de testosterona tem também um impacto significativo na depleção de tecido adiposo. Há evidência científica que o hipogonadismo em doentes oncológicos do sexo masculino situa-se entre 40 a 90% com diversas tipologias, nomeadamente, cancro do pulmão, pâncreas e cabeça e pescoço [37].

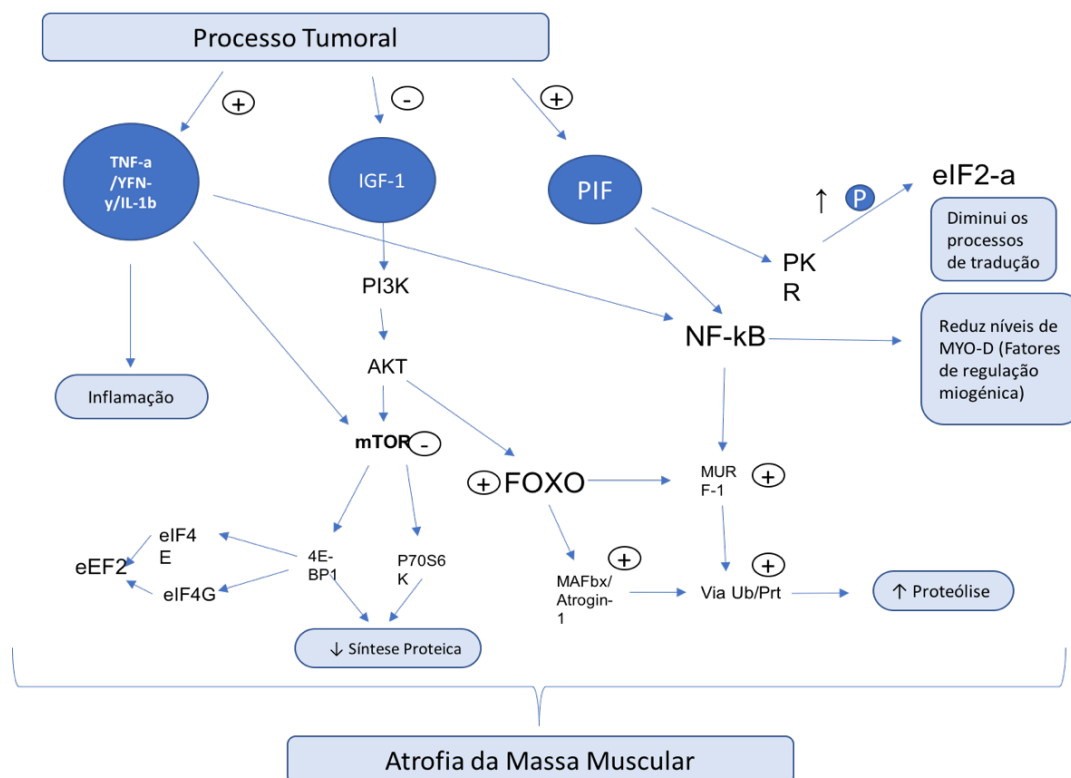
Os adipócitos são uma fonte importante de leptina, uma hormona anorexígeno e lipolítica, a depleção de tecido adiposo parece ser responsável pela diminuição dos níveis de leptina. A diminuição dos níveis de leptina, numa resposta hipotalâmica normal, devia

aumentar os péptidos orexigénicos, resultando consequentemente num aumento do apetite e diminuição da utilização de energia, porém esta resposta parece ser atenuada em doentes oncológicos com caquexia. Evidência científica aponta para o papel das citocinas pró-inflamatórias nesta atenuação, parecem provocar efeitos na homeostasia energética mimetizando a leptina, aumentando as ações hipotalâmicas e contribuindo assim para a instalação de quadros de anorexia e perda ponderal [37].

Particularmente a citocina IL-6 encontra-se elevada em doentes com cancro de cabeça e pescoço, esta citocina partilha a mesma via de sinalização de recetores que a leptina e quando aumentada pode também induzir quadros de anorexia e perda ponderal [37].

### **2.3. Mecanismos moleculares/vias de sinalização que levam à atrofia da massa muscular aquando da presença tumoral.**

A fisiopatologia da caquexia oncológica é bastante complexa. Está representado na figura 3, um esquema representativo das vias de ação e mecanismos moleculares, que intervêm no processo da caquexia oncológica e o respetivo impacto na síntese proteica e proteólise.



TNF-α: fator de necrose tumoral alfa; YFN-γ: interferon gama; IL-1β: interleucina 1 beta; IGF-1: fator de crescimento 1 da insulina; PI3K: fosfoinositídeo 3 cinase; AKT: proteína cinase B; mTOR: alvo da rapamicina nos mamíferos; 4E-BP1: 4E-BP1 binding protein; P70S6K: 70 KDa ribossomal S6 cinase; eIF4E: fator de iniciação eucariótico 4E; eIF4G: fator de iniciação eucariótico 4G; eEF2: fator de elongação eucariótico 2; FOXO: forkhead family; MAFbx/atrogin-1: atrogin-1; MURF-1: Muscle RING finger protein-1; via Ub/Prt: via da ubiquitina proteossoma; NF-κB: fator nuclear kappa B; PKR: proteína cinase R; eIF2-a: fator de iniciação eucariótico 2 alfa.

Figura 3. Mecanismos e marcadores moleculares que controlam o *turnover* proteico

### 2.3.1. Sinalização IGF-1-PI3k-AKT-mTOR/FOXO

O crescimento ou atrofia, depende primeiramente da atividade da via fosfoinositídeo 3 cinase (PI3K) – proteína cinase B (AKT) - alvo da rapamicina nos mamíferos (mTOR). Na maioria das células esta via controla a divisão celular no entanto em células que não se dividem, estimula a síntese global de proteínas e inibe a degradação proteica [38]. Esta via de sinalização é ativada pela insulina ou fator de crescimento 1 da insulina (IGF-1) [19].

A via IGF-1-PI3K-AKT induz o crescimento muscular, primeiramente ao estimular a síntese proteica através do mTOR e inibe a degradação induzida pelos fatores transcricionais (FOXO).

Relativamente aos membros da família FOXO, *Forkhead box O1* (FOXO1) e *Forkhead box O3* (FOXO3) têm recebido mais atenção, pois provavelmente estão ativados em todos

os tipos de atrofia e ambos induzem componentes da via ubiquitina-proteossoma. De facto, a ativação do FOXO3 *per se* chega para ativar a proteólise via UPP [38].

A redução da sinalização PI3K-AKT ocorre em doenças catabólicas resultando numa diminuição da síntese proteica e aumentando o processo proteolítico induzido pelos FOXO. A inibição desta via ocorre na redução dos níveis de IGF-1 [38]. A redução dos níveis de IGF-1 foi detetada em modelos pré-clínicos [37] e doentes oncológicos com caquexia associada ao cancro [23]. O aumento dos níveis de TNF-alfa e IL-1b têm demonstrado capacidade de inibir a expressão e atividade do IGF-1 [22], posto isto sendo o IGF-1 um fator importante na regulação da via PI3K-AKT, seria interessante estabelecer os níveis do mesmo, de modo a reduzir a atividade dos FOXO, no entanto perigosa, pois tem potencial de promover o crescimento tumoral [38].

O TNF-alfa parece também influenciar a via de sinalização do mTOR, como referido anteriormente um mediador importante na resposta anabólica a nível muscular. Estudos em animais e humanos indicam que a ação inibitória do TNF-alfa na via de sinalização mTOR tem um papel na caquexia no cancro [37].

Um estudo em roedores, após administração de TNF-alfa ou IL-1 demonstrou que a perda de massa muscular era semelhante à observada em doentes oncológicos com caquexia [36]. No entanto enquanto o tratamento dos roedores portadores de tumores com imunoglobulinas anti-citoquinas reduziu a atrofia da massa muscular, o seu impacto na perda ponderal sistémica foi apenas parcial.

### **2.3.2. Via Ubiquitina-proteossoma/NF-kB/PIF**

Os mecanismos específicos que induzem a perda da massa muscular na caquexia no cancro ainda não estão suficientemente esclarecidos, no entanto evidência científica aponta para a participação de citoquinas pró inflamatórias e fatores tumorais na ativação das vias proteolíticas dentro da célula muscular [39]. O aumento da proteólise é significativo a nível muscular em doentes com caquexia [18].

O metabolismo proteico está alterado na caquexia associada ao cancro e estudos referem que o *turnover* proteico em doentes oncológicos com caquexia está aumentado [37]. Vários mecanismos/vias proteolíticas estão envolvidas, a nível molecular, a via UPP foi identificada como um mecanismo importante na degradação proteica [7, 18, 19, 22, 36, 40, 41] em diversos estados patológicos, assim como no jejum prolongado e acidose metabólica. A ativação desta via foi identificada em modelos pré-clínicos com caquexia

associada ao cancro [36]. Estudos prévios demonstraram que a atrofia muscular é uma resposta a um estímulo caquético, demonstrando uma ativação similar desta via proteolítica, associando assim a expressão da mesma à aceleração da proteólise [38, 42].

Esta via proteolítica pode ainda ser induzida através da estimulação da via do fator nuclear KB (NF-kB) [7], esta ativação específica leva à perda de massa muscular [36]. Citoquinas pró-inflamatórias como o TNF-alfa e IL-6 são responsáveis pela ativação da transcrição de NF-kB, que por sua vez reduz a proteína miofibrilar ao diminuir a expressão de um fator envolvente na diferenciação muscular como o MYO-D [34], e ao ativar também a via UPP [36, 37].

Estas citoquinas, assim como a IL-1b e IFN-y estão elevadas no cancro, podendo originar a perda da massa muscular em parte pelo aumento da expressão do NF-kB [32, 38]. O NF-kB estimula a transcrição de *muscle RING-finger protein-1* (MURF1), enquanto que os FOXO estimulam a expressão de MURF1 e MAFbx/atrogina-1 [19, 37]. A expressão aumentada destas ubiquitinas ligases, é responsável pela poliubiquitinação seletiva das proteínas que foram sinalizadas para degradação [22, 37]. Em situações catabólicas, onde a proteólise se encontra aumentada estas ubiquitinas ligases encontram-se aumentadas [43]. Posto isso, atualmente o MURF1 e a atrogina 1 são utilizados como marcadores associados à aceleração da proteólise [38], através da via UPP [43].

Os efeitos catabólicos dos FOXO são mediados pela indução das ubiquitinas ligases relacionadas com a perda, MAFbx/atrogina-1 e MURF-1. Grande leque de evidência científica implica a transcrição da família FOXO como elemento chave na atrofia da massa muscular durante a caquexia [36], no entanto estudos recentes demonstraram que a atrogina-1 e o MURF-1 não são componentes essenciais para a atividade do proteossoma, porém existem poucos estudos sobre os níveis proteicos das mesmas na perda muscular, nomeadamente em humanos [22].

Os tumores produzem fatores pró-caquéticos, incluindo o fator de indução da proteólise (PIF) [7]. O PIF foi identificado por Todorov *et al* [44], em ratos portadores de tumor caquetizante MAC16 [26, 34]. O PIF tem sido também identificado na urina de doentes com perda ponderal com neoplasias a nível do cólon, pulmão, ovários, pâncreas e fígado. Estudos demonstram que os níveis do PIF se relacionam com o aparecimento da caquexia, no entanto os mecanismos propostos pelo mesmo não foram ainda confirmados em humanos [7].

O TNF-alfa e o PIF são os principais responsáveis/candidatos para a atrofia da massa muscular em doentes com caquexia, ambos aumentam a degradação proteica através da UPP [7], através da ativação do NF-kb [34]. Esta ativação deve-se à fosforilação da sub-unidade alfa do eIF2 por parte do PKR, tendo como consequência a redução do processo de tradução e aumento da proteólise [45].

Em suma, a sinalização intracelular de transdução resultante destes sinais catabólicos, citocinas, hormonas e outros fatores, convergem numa via proteolítica comum da qual o NF-kB e as ubiquitinas ligases parecem ser um elemento crucial [37].

### **B-hidroxi-B-metilbutirato (HMB)**

#### **2.3.3. Caracterização**

O B-hidroxi-B-metilbutirato (HMB) é um ácido orgânico de 5 carbonos, que deriva do aminoácido essencial leucina por via do seu metabolito alfa-cetoisocaproato (alpha-KIC).

Quase 80% da leucina é normalmente utilizada para a síntese proteica enquanto que o restante é convertido em (alpha-KIC) e apenas 5% é convertido em HMB. A leucina pode ser transaminada a alfa-KIC por duas vias distintas. A primeira consiste na transformação do alfa-KIC a HMB pela enzima hepática citosólica KIC dioxigenase, com o HMB citosólico a ser posteriormente convertido em B-hidroxi-B-metilglutaril-Coenzima A (HMG-Coa) que pode ser direcionado para a síntese de colesterol, tanto a nível hepático como a nível muscular. A segunda via consiste, a nível hepático, na oxidação do alfa-KIC em isovaril coenzima A pelo cetoácido mitocondrial desidrogenase de cadeia ramificada (BCKD), sendo que o HMG-Coa é produzido pelo HMG-Coa sintase [46].

O HMB, tem sido usado para prevenir a perda ponderal, reduzir o dano na massa muscular, aumentar a massa muscular e a força e diminuir a proteólise [39]. Podendo ainda contribuir para a integridade do sarcolema, ao promover uma fonte de HMG-coa citosólico para a síntese de colesterol, permitindo que uma grande percentagem de colesterol seja utilizada para a síntese da membrana celular [46-48].

Rathmacher *et al* [49], avaliaram a segurança da suplementação de uma combinação de compostos nomeadamente HMB, arginina (ARG) e glutamina (GLN) em doentes oncológicos e doentes portadores de SIDA, concluindo que a combinação dos mesmos é segura e não está associada a nenhum efeito adverso, afirmando mesmo que a

combinação destes nutrientes tem alguns efeitos positivos na hemoglobina, hematócrito e formação de eritrócitos, frisando ainda ser mais promissor em doentes oncológicos.

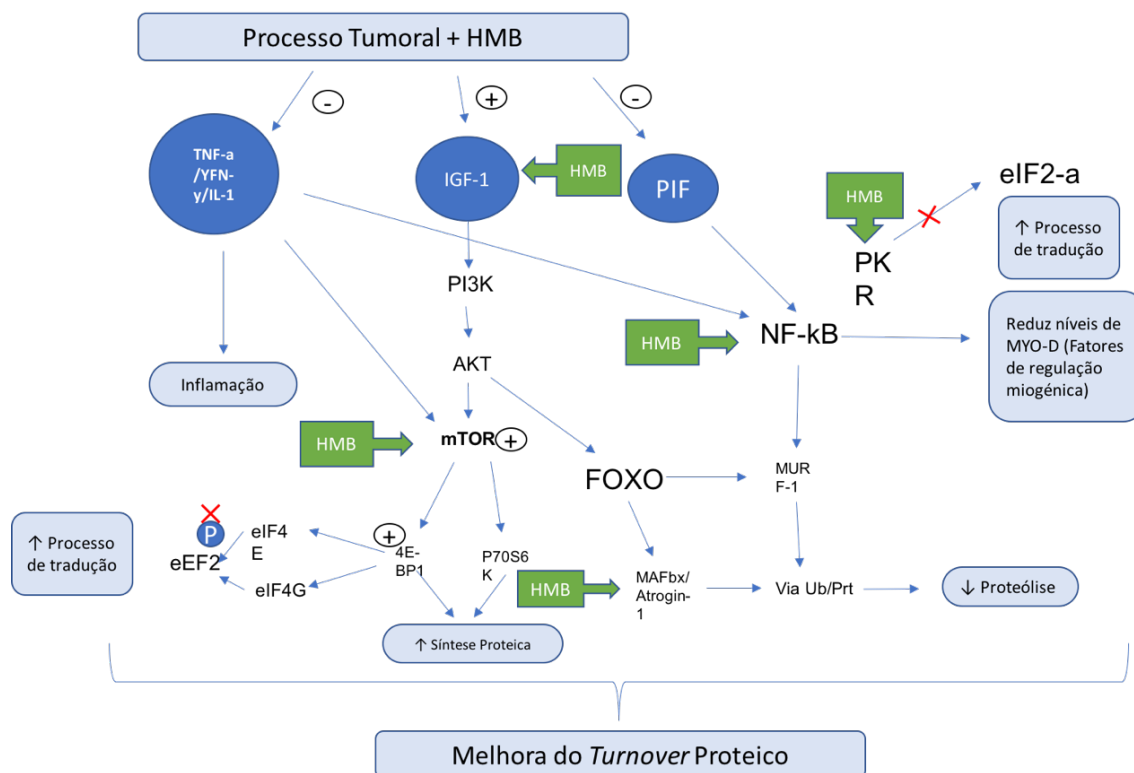
#### **2.3.4. HMB – Potenciais vias de ação na síntese proteica e proteólise**

Está representado de forma esquemática na figura 4, tendo em conta os mecanismos moleculares espelhados na fisiopatologia da caquexia oncológica, as potenciais vias de ação onde o HMB pode efetivamente representar uma ação positiva e contribuir para a melhora do *turnover* proteico.

A eficácia do HMB tem sido demonstrada, em situações patológicas, onde é registada a redução de massa muscular nomeadamente na caquexia associada ao cancro [47] e em doenças crónicas [46].

Alterações na homeostasia da proteína muscular são provavelmente induzidas por citocinas, tais como TNF-alfa ou fatores tumorais como o PIF, o que acaba por inibir a síntese proteica a nível muscular e estimular a proteólise [42].

Efeitos atribuídos ao HMB são a atenuação da proteólise, aumento do eixo hormona do crescimento (GH) -IGF-1 e expressão de IGF-1 no músculo e ativação da via do mTOR. (23+). Estudos em animais tratados com estimulantes caquéticos (PIF, TNF-alfa/IFN-gama, ANG II e LPS), o HMB estimulou a síntese proteica, através do aumento da fosforilação e ativação do mTOR [46]. Inclusive Eley I. *et al* [42], num estudo em animais portadores do tumor MAC 16 sugere que efetivamente o HMB sozinho parece estimular a síntese proteica através da via mTOR/p70s6K. O aumento da fosforilação desta via pode ser parcialmente responsável pela atenuação da inibição exercida pelo PIF na síntese proteica [42]. Estudos prévios [32, 42, 46] alegam que o PIF inibe a síntese proteica em miotubos através da ativação do PKR, o que resulta num aumento da fosforilação do eIF2-alfa e eEF2 resultando numa diminuição do processo de tradução.



HMB: B-hidroxi-B-metilbutirato; TNF- $\alpha$ : fator de necrose tumoral alfa; YFN- $\gamma$ : interferon gama; IL-1 $\beta$ : interleucina 1 beta; IGF-1: fator de crescimento 1 da insulina; PI3K: fosfoinositíde 3 cinase; AKT: proteína cinase B; mTOR: alvo da rapamicina nos mamíferos; 4E-BP1: 4E-BP1 binding protein; P70S6K: 70 KDa ribossomal S6 cinase; eIF4E: fator de iniciação eucariótico 4E; eIF4G: fator de iniciação eucariótico 4G; eIF2: fator de elongação eucariótico 2; FOXO: forkhead family; MAFbx/atrogin-1: atrogin-1; MURF-1: Muscle RING finger protein-1; via Ub/Prt: via da ubiquitina proteossoma; NF- $\kappa$ B: fator nuclear kappa B; PKR: proteína cinase R; eIF2- $\alpha$ : fator de iniciação eucariótico 2 alfa.

Figura 4. Mecanismos moleculares/vias de ação que controlam o *turnover* proteico e potenciais vias de ação do HMB

A ação do HMB neste processo, prima pela atenuação da fosforilação do eEF2 ao aumentar a fosforilação do mTOR [46, 50], aumentando a fosforilação de 4E-BP1, libertando o eIF4E para formar o complexo ativo eIF4E-eIF4G reduzindo a fosforilação do eEF2 e promovendo assim a síntese proteica [50].

A atenuação da fosforilação do eIF2alfa pelo HMB resulta da atenuação da fosforilação e ativação do PKR [46]. Porém segundo Eley et al [42], esta ação no PKR é efetiva apenas na presença do PIF, pois o HMB, na ausência do PIF não demonstrou qualquer efeito na fosforilação do PKR ou do eif2a, sugerindo que a ação do HMB inibe a fosforilação do eif2a ao prevenir a ativação do PKR. De um modo geral o HMB estimula a síntese proteica a nível do músculo ao ativar diversas vias, levando ao aumento do processo de tradução e diminuição da proteólise [32].

A proteólise miofibrilar pode ser iniciada através de sistemas proteolíticos como UPP e os sistemas das caspases, tendo um papel crucial em patologias com perda muscular associada [46]. Evidência científica tem demonstrado que o HMB reduz a perda de massa

muscular associada ao cancro ao atenuar a via UPP [39, 47], sugerindo que o mesmo tem funções predominantemente anti-catabólicas e não tanto a anabólicas [47]. O seu efeito na degradação proteica tem sido demonstrado como resultado da inibição do aumento da atividade induzida pelo PIF na via UPP, através da atenuação das vias de sinalização que levam à ativação do NF- $\kappa$ B [42].

O HMB parece ainda exercer algum efeito ao atenuar o aumento da expressão da via ubiquitina proteossoma induzido pelo PIF, através da inibição do PKC (proteína cinase-c) com a resultante estabilização do complexo citoplasmático I $\kappa$ B/NF- $\kappa$ B [40, 46].

## **2.4. Estudos clínicos e pré-clínicos do potencial efeito do HMB na síntese proteica e proteólise.**

### **2.4.1. *In vitro***

Girón *et al* [51], em modelos *in vitro* de células L6, demonstrou que a conversão da leucina em HMB é essencial para a fosforilação do mTOR através da ativação do PKB/AKT. Posto isto, sendo a ativação do mTOR um ponto chave para a síntese proteica modulada pela PI3K/AKT, o HMB terá um impacto no aumento da síntese proteica. No entanto nesta avaliação não existia qualquer estímulo catabólico, mesmo assim os autores avançaram com a hipótese do efeito positivo do HMB em situações de perda, alegando que a capacidade do HMB estimular a síntese proteica pode contrapor a existência do aumento da proteólise, consequência patológica em condições de perda.

### **2.4.2. *In vivo* animais**

Aversa *et al* [40], avaliaram, se administração isolada de HMB em modelos experimentais de caquexia oncológica (AH\_130 *Yoshida ascites hepatoma*) teria efeitos positivos e se o HMB interferia com as vias anabólicas a nível muscular. Neste estudo o HMB está associado com a atenuação da perda de massa muscular em modelos experimentais com caquexia oncológica, hipotetizando ainda que a administração do mesmo pode atenuar a perda de massa muscular e ponderal através da redução do crescimento tumoral, observada neste estudo, porém esta ação carece de mais estudo.

Noutra investigação [41], a administração de uma dose de 125mg/Kg de HMB em ratos MAC16 portadores de tumor demonstrou que o HMB não só é capaz de atenuar a

proteólise no músculo esquelético, mas também estimula a síntese proteica. O estudo de Nunes *et al* [39], em ratos *walker 256* portadores de tumor corroboraram este resultado, mas utilizaram uma dose de 76mg/kg, contudo este estudo demonstrou também que a suplementação com HMB reduziu o crescimento tumoral *in vivo*, em cerca de 40% [39, 46].

### **2.4.3. *In vivo* humanos**

No estudo de May *et al* [31], o primeiro ensaio clínico, randomizado duplamente cego, demonstrou um aumento da massa magra com a suplementação de aminoácidos em doentes oncológicos em estadio avançado (IV). Os participantes que receberam a suplementação de HMB/ARG/GLN aumentaram a massa corporal em 4 semanas com consequente aumento de massa muscular, aumento este, que se manteve ao longo de 24 semanas [14, 31, 40, 46].

No entanto Berk L *et al* [52], num estudo randomizado duplamente cego com 472 doentes com estadio avançado de cancro do pulmão e outros tipos de cancros, utilizou HMB/ARG/GLN como suplementação, não tendo resultados significativos na massa magra avaliada nos dois braços ao longo das 8 semanas de estudo. No entanto apenas 37% dos doentes completaram um estudo, 45% da amostra inicial abandonou o estudo por opção própria, utilizando como argumento algum tipo de efeito colateral inerente á intervenção utilizada.

## **3. Conclusão**

A fisiopatologia da caquexia continua bastante complexa, e por essa razão é necessário um consenso sobre a definição e os critérios específicos para descrever adequadamente a caquexia associada ao cancro, uma vez que múltiplas definições discordantes da caquexia são usadas na literatura [4].

A melhor compreensão da fisiopatologia da caquexia a nível pré-clínico é vital para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas, no entanto as realizações de ensaios clínicos são necessários para a compreensão do verdadeiro papel dessas intervenções no doente oncológico [5].

Uma grande preocupação da suplementação no cancro é, teoricamente, o risco de aumentar o processo tumoral, particularmente quando se utilizam moléculas com

capacidade anabólica. Estudos prévios sugerem que o HMB reduz o crescimento tumoral, mas o mecanismo responsável por este efeito não é claro e merece mais investigação. A administração de HMB isolado ou combinado com outros nutrientes pode representar uma ação segura e eficaz na prevenção da perda de massa muscular na caquexia oncológica [40]. É necessária mais investigação, nomeadamente na compreensão dos mecanismos inerentes ao processo tumoral e estímulo caquético, de modo a potenciar a abordagem terapêutica multimodal que uma patologia complexa como esta carece.

#### 4. Referências bibliográficas

- [1] BUTTERWORTH, C.E.J. (1974). The Skeleton in the Hospital Closet. *Nutrition Today*, 9(2), pp. 4-8.
- [2] Arends, J., et al. (2017). ESPEN expert group recommendations for action against cancer-related malnutrition. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 36(5), pp. 1187-1196.
- [3] Mattox, T.W. (2017). Cancer Cachexia: Cause, Diagnosis, and Treatment. *Nutrition in clinical practice : official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition*, 32(5), pp. 599-606.
- [4] Baracos, V.E., et al. (2018). Cancer-associated cachexia. *Nature reviews. Disease primers*, 4(pp. 17105.
- [5] Crawford, J. (2016). Clinical results in cachexia therapeutics. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, 19(3), pp. 199-204.
- [6] Argiles, J.M., et al. (2017). Novel targeted therapies for cancer cachexia. *The Biochemical journal*, 474(16), pp. 2663-2678.
- [7] Donohoe, C.L., A.M. Ryan, and J.V. Reynolds. (2011). Cancer cachexia: mechanisms and clinical implications. *Gastroenterology research and practice*, 2011(pp. 601434.

- [8] Bruggeman, A.R., et al. (2016). Cancer Cachexia: Beyond Weight Loss. *Journal of oncology practice*, 12(11), pp. 1163-1171.
- [9] von Haehling, S., M.S. Anker, and S.D. Anker. (2016). Prevalence and clinical impact of cachexia in chronic illness in Europe, USA, and Japan: facts and numbers update 2016. *J Cachexia Sarcopenia Muscle Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 7(5), pp. 507-509.
- [10] Argiles, J.M., et al. (2011). The cachexia score (CASCO): a new tool for staging cachectic cancer patients. *Journal of cachexia, sarcopenia and Muscle*, 2(2), pp. 87-93.
- [11] Fearon, K., et al. (2011). Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus. *The Lancet. Oncology*, 12(5), pp. 489-95.
- [12] Evans, W.J., et al. (2008). Cachexia: a new definition. *Clinical nutrition* 27(6), pp. 793-9.
- [13] Vanhoutte, G., et al. (2016). Cachexia in cancer: what is in the definition? *BMJ open gastroenterology*, 3(1), pp. e000097.
- [14] Mochamat, et al. (2017). A systematic review on the role of vitamins, minerals, proteins, and other supplements for the treatment of cachexia in cancer: a European Palliative Care Research Centre cachexia project. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 8(1), pp. 25-39.
- [15] Muscaritoli, M., et al. (2015). Cachexia: a preventable comorbidity of cancer. A T.A.R.G.E.T. approach. *Critical reviews in oncology/hematology*, 94(2), pp. 251-9.
- [16] LeBlanc, T.W., et al. (2015). Correlation between the international consensus definition of the Cancer Anorexia-Cachexia Syndrome (CACS) and patient-centered outcomes in advanced non-small cell lung cancer. *Journal of pain and symptom management*, 49(4), pp. 680-9.

- [17] Dunne, R.F., et al. (2017). Research priorities in cancer cachexia: The University of Rochester Cancer Center NCI Community Oncology Research Program Research Base Symposium on Cancer Cachexia and Sarcopenia. *Current opinion in supportive and palliative care*, 11(4), pp. 278-286.
- [18] Argiles, J.M., et al. (2015). Cachexia and sarcopenia: mechanisms and potential targets for intervention. *Current opinion in pharmacology*, 22(pp. 100-6.
- [19] Mueller, T.C., et al. (2016). Molecular pathways leading to loss of skeletal muscle mass in cancer cachexia--can findings from animal models be translated to humans? *BMC Cancer*, 16(pp. 75.
- [20] Laviano, A., G. Di Lazzaro Giraldi, and A. Koverech. (2016). Does nutrition support have a role in managing cancer cachexia? *Current opinion in supportive and palliative care* 10(4), pp. 288-292.
- [21] Blum, D., et al. (2014). Validation of the Consensus-Definition for Cancer Cachexia and evaluation of a classification model--a study based on data from an international multicentre project (EPCRC-CSA). *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*, 25(8), pp. 1635-42.
- [22] Sakuma, K., W. Aoi, and A. Yamaguchi. (2017). Molecular mechanism of sarcopenia and cachexia: recent research advances. *Pflugers Archiv : European journal of physiology*, 469(5-6), pp. 573-591.
- [23] Porporato, P.E. (2016). Understanding cachexia as a cancer metabolism syndrome. *Oncogenesis*, 5(pp. e200.
- [24] Argiles, J.M., et al. (2014). Cancer cachexia: understanding the molecular basis. *Nature reviews. Cancer* 14(11), pp. 754-62.
- [25] Duval, A.P., et al. (2018). mTOR and Tumor Cachexia. *International journal of molecular sciences*, 19(8), pp.

- [26] Kim, J.S., et al. (2013). beta-Hydroxy-beta-methylbutyrate as a countermeasure for cancer cachexia: a cellular and molecular rationale. *Anti-cancer agents in medicinal chemistry*, 13(8), pp. 1188-96.
- [27] Ma, J.D., et al. (2014). Novel investigational biologics for the treatment of cancer cachexia. *Expert opinion on biological therapy*, 14(8), pp. 1113-20.
- [28] Argiles, J.M., F.J. Lopez-Soriano, and S. Busquets. (2013). Mechanisms and treatment of cancer cachexia. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*, 23 Suppl 1(pp. S19-24.
- [29] Ryan, A.M., et al. (2016). Cancer-associated malnutrition, cachexia and sarcopenia: the skeleton in the hospital closet 40 years later. *The Proceedings of the Nutrition Society* 75(2), pp. 199-211.
- [30] Martin, L., et al. (2015). Diagnostic criteria for the classification of cancer-associated weight loss. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 33(1), pp. 90-9.
- [31] May, P.E., et al. (2002). Reversal of cancer-related wasting using oral supplementation with a combination of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate, arginine, and glutamine. *American journal of surgery*, 183(4), pp. 471-9.
- [32] Dutt, V., et al. (2015). Skeletal muscle atrophy: Potential therapeutic agents and their mechanisms of action. *Pharmacological research*, 99(pp. 86-100.
- [33] Gangadharan, A., et al. (2017). Protein calorie malnutrition, nutritional intervention and personalized cancer care. *Oncotarget*, 8(14), pp. 24009-24030.
- [34] Gordon, J.N., S.R. Green, and P.M. Goggin. (2005). Cancer cachexia. *QJM : monthly journal of the Association of Physicians* 98(11), pp. 779-88.

- [35] White, J.P., et al. (2012). IL-6 regulation on skeletal muscle mitochondrial remodeling during cancer cachexia in the *ApcMin/+* mouse. *Skeletal muscle*, 2(pp. 14.
- [36] Petruzzelli, M. and E.F. Wagner. (2016). Mechanisms of metabolic dysfunction in cancer-associated cachexia. *Genes & development*, 30(5), pp. 489-501.
- [37] Couch, M.E., et al. (2015). Cancer cachexia update in head and neck cancer: Pathophysiology and treatment. *Head & neck*, 37(7), pp. 1057-72.
- [38] Cohen, S., J.A. Nathan, and A.L. Goldberg. (2015). Muscle wasting in disease: molecular mechanisms and promising therapies. *Nature reviews. Drug discovery*, 14(1), pp. 58-74.
- [39] Nunes, E.A., et al. (2008). Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation reduces tumor growth and tumor cell proliferation *ex vivo* and prevents cachexia in Walker 256 tumor-bearing rats by modifying nuclear factor-kappaB expression. *Nutrition research (New York, N.Y.)*, 28(7), pp. 487-93.
- [40] Aversa, Z., et al. (2011). beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) attenuates muscle and body weight loss in experimental cancer cachexia. *International journal of oncology*, 38(3), pp. 713-20.
- [41] Smith, H.J., P. Mukerji, and M.J. Tisdale. (2005). Attenuation of proteasome-induced proteolysis in skeletal muscle by beta-hydroxy-beta-methylbutyrate in cancer-induced muscle loss. *Cancer research* 65(1), pp. 277-83.
- [42] Eley, H.L., et al. (2007). Signaling pathways initiated by beta-hydroxy-beta-methylbutyrate to attenuate the depression of protein synthesis in skeletal muscle in response to cachectic stimuli. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 293(4), pp. E923-31.
- [43] de Palma, L., et al. (2008). Ubiquitin ligases MuRF1 and MAFbx in human skeletal muscle atrophy. *Joint, bone, spine : revue du rhumatisme* 75(1), pp. 53-7.

- [44] Todorov, P., et al. (1996). Characterization of a cancer cachectic factor. *Nature*, 379(6567), pp. 739-42.
- [45] Eley, H.L., S.T. Russell, and M.J. Tisdale. (2008). Mechanism of attenuation of muscle protein degradation induced by tumor necrosis factor-alpha and angiotensin II by beta-hydroxy-beta-methylbutyrate. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* 295(6), pp. E1417-26.
- [46] Molfino, A., et al. (2013). Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation in health and disease: a systematic review of randomized trials. *Amino Acids*, 45(6), pp. 1273-92.
- [47] Kornasio, R., et al. (2009). Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) stimulates myogenic cell proliferation, differentiation and survival via the MAPK/ERK and PI3K/Akt pathways. *Biochimica et biophysica acta*, 1793(5), pp. 755-63.
- [48] Nissen, S., et al. (2000). beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation in humans is safe and may decrease cardiovascular risk factors. *The journal of Nutrition*, 130(8), pp. 1937-45.
- [49] Rathmacher, J.A., et al. (2004). Supplementation with a combination of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB), arginine, and glutamine is safe and could improve hematological parameters. *JPEN. Journal of parenteral and enteral nutrition*, 28(2), pp. 65-75.
- [50] Eley, H.L., S.T. Russell, and M.J. Tisdale. (2008). Attenuation of depression of muscle protein synthesis induced by lipopolysaccharide, tumor necrosis factor, and angiotensin II by beta-hydroxy-beta-methylbutyrate. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 295(6), pp. E1409-16.
- [51] Giron, M.D., et al. (2016). Conversion of leucine to beta-hydroxy-beta-methylbutyrate by alpha-keto isocaproate dioxygenase is required for a potent stimulation of protein synthesis in L6 rat myotubes. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 7(1), pp. 68-78.

- [52] Berk, L., et al. (2008). A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of a beta-hydroxyl beta-methyl butyrate, glutamine, and arginine mixture for the treatment of cancer cachexia (RTOG 0122). *Supportive care in cancer : official journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*, 16(10), pp. 1179-88.