



## O PAPEL DA TRANSIÇÃO EPITÉLIO-MESENQUIMAL NO POTENCIAL METASTÁTICO DE TUMORES MALIGNOS

Andréa Silva de Medeiros<sup>1</sup>  
Luana Angélica Aires Rodrigues Jordão<sup>1</sup>  
Cláudia Roberta Leite Vieira de Figueredo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduandas de Enfermagem em Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa;

<sup>2</sup>Orientadora/Docente do Departamento de Clínica e Odontologia Social na Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

E-mail: andreamdrssjs@gmail.com

### RESUMO

Metástase é um fenômeno biológico complexo caracterizado pela disseminação de células tumorais a partir do tumor primário para um ou mais sítios teciduais diferentes, através da circulação sanguínea e linfática. Nos tumores epiteliais malignos, o potencial metastático tem sido relacionado à “Transição Epitélio-Mesenquimal” (EMT, do inglês: Epithelial-Mesenchymal Transition). O objetivo foi realizar uma revisão da literatura sobre o papel da EMT nos mecanismos de invasão tumoral e metástase. Foi realizado estudo descritivo, do tipo pesquisa bibliográfica, na base de dados BVS utilizando os descritores: “EMT”, “Câncer Epitelial” e “Metástase”, com análise de 14 artigos datados entre 2003 a 2017, e uma Tese de Doutorado. A metástase decorre de uma sucessão heterogênea de bioeventos, especialmente representados por: a) angiogênese; b) deslocamento e migração, c) invasão do estroma adjacente ao tumor; d) invasão da membrana vascular e intravasão; e) adesão das células tumorais às células circulantes; f) fixação e crescimento de tumores secundários no órgão-alvo. Portanto, o desenvolvimento de metástases depende da adesão celular diminuída, aliada à capacidade dos clones tumorais migrarem e invadirem o estroma adjacente, o que parece ser facilitado pela EMT, caracterizada pela mudança do fenótipo epitelial para o mesenquimal, levando à perda ou expressão reduzida dos marcadores específicos das células epiteliais e o aumento da expressão de marcadores de células mesenquimais. Vários carcinomas, mostra que a reativação de Fatores Transcrição genéticos do desenvolvimento embrionário são indutores da MET. Conclui-se que a EMT é um intrigante facilitador do surgimento de metástases, atuando no desenvolvimento e progressão do câncer.

**Descritores:** EMT; Câncer epitelial; Metástase.

## THE ROLE OF THE EPITHELIUM-MESQUAKE TRANSITION NO METABASTIC POTENTIAL OF MALIGNANT TUMORS

### ABSTRACT

Metastasis is a complex biological phenomenon characterized by the spread of tumor cells from the primary tumor to one or more different tissue sites through the blood and lymphatic circulation. In malignant epithelial tumors, metastatic potential has been related to an Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT). The objective was to review the literature on the role of EMT in the mechanisms of tumor invasion and metastasis. A descriptive study of the

MEDEIROS AS, JORDÃO LAAR, FIGUEREDO CRLV. O Papel da Transição Epitélio-Mesenquimal no Potencial Metastático de Tumores Malignos.

Revista Saúde e Ciência online, v. 7, n. 2, (maio a agosto de 2018). 502 p.



type of bibliographical research was carried out in the VHL database using the descriptors: "EMT", "Epithelial Cancer" and "Metastasis", with an analysis of 14 articles dated between 2003 and 2017, and PhD theses. The metastasis derives from a heterogeneous succession of bioevents, especially represented by: a) angiogenesis; b) detachment and migration, c) invasion of the stroma adjacent to the tumor; d) vascular membrane invasion and intravasation; e) adhesion of tumor cells to circulating cells; f) fixation and growth of secondary tumors in the target organ. Therefore, the development of metastases depends on the decreased cell adhesion, together with the ability of the tumor clones to migrate and invade the adjacent stroma, which seems to be facilitated by the EMT, characterized by the epithelial phenotype for the mesenchymal, which leads to reduced loss or expression of specific epithelial cell markers, and increased expression of mesenchymal cell markers. In several carcinomas, it has demonstrated that the reactivation of transcription factors genetic programs are inducers of MET. Concludes EMT is an facilitator the appearance of metastases, acting in the development and progression of cancer.

**Keywords:** EMT; Epithelial cancer; Metastasis.

## INTRODUÇÃO

A maioria das mortes por câncer está associada às consequências da lesão metastática e não diretamente ao tumor primário. Do ponto de vista clínico, a metástase é o evento mais crítico da tumorigênese, pois 90% da mortalidade do câncer está relacionada à disseminação metastática (1).

A metástase é um processo de dispersão de células tumorais a partir do tumor primário para um ou mais sítios teciduais distintos, através dos vasos sanguíneos e linfáticos.

Nesse contexto, para que tal evento seja possível, é necessário que as células tumorais se evadam (se desprendam) do tumor primário por meio da diminuição das interações célula-célula e, ao mesmo tempo, tenham a capacidade de migrar e invadir o estroma adjacente.

Para tanto, as células malignas precisam adquirir propriedades invasivas para disseminar-se, aumentando a chance para o crescimento de novos tumores em locais distantes.

Com esse objetivo e, em especial nos tumores de origem epitelial, células neoplásicas em metástase reativam um programa genético típico do desenvolvimento embrionário, denominado transição Epitélio-Mesenquimal (EMT- do inglês "epithelial-mesenchymal transition"), o qual é caracterizado pela mudança (ou transição) do fenótipo epitelial para o mesenquimal, o que leva à perda ou expressão reduzida dos marcadores específicos das células epiteliais, além do aumento da expressão de marcadores típicos das células mesenquimais.



De fato, durante o desenvolvimento embrionário, as células podem transitar entre os estados epitelial e mesenquimal de uma forma altamente plástica e dinâmica. Uma mudança para o estado mesenquimal modifica as moléculas de adesão expressas pela célula, permitindo-lhe adotar um comportamento migratório e invasivo (2).

A EMT controla aspectos importantes do desenvolvimento embrionário. Esse fenômeno tornou-se real para a biologia do desenvolvimento (embriologia) desde o final do século XIX, a partir da clara evidência histológica de que, durante a gastrulação, as células mesenquimais se originavam do epiblasto adjacente.

A EMT foi experimentalmente evidenciada a partir da demonstração de que epitélios embrionários embutidos em géis de colágeno 3D se converteram em células migratórias semelhantes a fibroblastos, fornecendo a importante evidência de que os tecidos epiteliais embrionários eram menos estáveis do que o esperado.

Nesse contexto, é importante mencionar que já está extensivamente documentado que, em tumores sólidos de origem epitelial, como os carcinomas de ovário, mama, pulmão e boca, bem como em glioblastomas (tumores do Sistema Nervoso Central), a EMT é um fenômeno crucial para o desenvolvimento das metástases (2).

Também já está amplamente certificado que, para o sucesso da disseminação metastática, durante o desenvolvimento da EMT, as células perdem os contatos célula-célula e, concomitantemente, diminuem a expressão das moléculas de junções epiteliais aderentes, como a E-caderina e, além disso, ganham a expressão de proteínas envolvidas, por exemplo, com a aquisição de propriedades de células-tronco.

Nesse contexto, o objetivo fulcral deste trabalho é resumir e discutir as evidências científicas que sustentam o envolvimento generalizado da EMT na patogênese, regulação e disseminação do câncer.

## **MÉTODO**

A proposta deste trabalho foi discutir o fenômeno da transição epitélio mesenquimal, enquanto mecanismo embrionário que é reativado na doença câncer, e que está envolvido na sua patogenia, regulação e disseminação.

Para tanto, utilizamos uma abordagem teórica do tipo qualitativa e descritiva, enfrentando o tema através de um método analítico e dedutivo. Optamos por uma consulta bibliográfica, alimentada em fontes da literatura médica e das ciências biológicas, dado o caráter multidisciplinar da análise em questão. Foram consultadas as plataformas digitais



MEDLINE, LILACS, PubMed e SciELO, usando como descritores “EMT”, “Câncer e EMT”, “EMT e Metástase”.

Os critérios de inclusão dos artigos foram publicação em português, inglês ou espanhol, com os resumos disponíveis nas bases de dados selecionadas, no período compreendido entre 2009 a 2017. A busca realizada nas bases de dados com os descritores supracitados resultou em 200 artigos e 23 Teses de Doutorado. Após a aplicação dos critérios de inclusão/exclusão, obteve-se um total de 88 artigos, além das teses. Após criteriosa avaliação, 14 artigos e uma Tese de Doutorado foram incluídos nesta revisão.

## **RESULTADOS/DISCUSSÃO**

Em acordo com a metodologia descrita supra, os resultados dos estudos encontrados foram subdivididos em alguns eixos temáticos, a seguir elencados.

### **1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A EMT**

A transição Epitélio-Mesenquimal é um programa embrionário de desenvolvimento através do qual as células epiteliais se diferenciam em células mesenquimais, migram para outras regiões do embrião e formam novos tipos celulares.

A EMT apresenta certas características que são consideradas como suas marcas morfológicas. Estas, incluem a ruptura das junções intercelulares, perda da polaridade, reorganização do citoesqueleto e aumento da motilidade celular. Portanto, na maioria dos modelos experimentais, marcadores epiteliais (E-caderina) e mesenquimais (N-caderina e vimentina) são indicadores que confirmam a ocorrência da EMT (3).

À semelhança de outros fenômenos do desenvolvimento embrionário, a EMT é silenciada em tecidos adultos saudáveis. No entanto, a reativação da EMT ocorre em condições patológicas, incluindo inflamação crônica, fibrose pós-reparo e câncer.

No processo de reepitelização pós-injúria, células epiteliais submetidas a EMT perdem características epiteliais, como componentes de junções aderentes, polaridade apicobasal, e o citoesqueleto é reorganizado para apoiar um estado mais migratório.

No câncer, o programa genético regulador da EMT é executado em resposta à ativação de mecanismos de sinalização pleiotrópicos que induzem a expressão de fatores de transcrição específicos (TFs - do inglês “Transcription Factors”), chamados EMT-TFs (do inglês EMT-inducing transcription factors), como Snail, Zeb, Twist e outros (4).



Esses fatores cooperam uns com os outros para regular a expressão de genes-alvo e, muitas vezes, funcionam como repressores de genes epiteliais e ativadores de genes mesenquimais (3).

Nesse tópico, vale mencionar que perda da expressão de E-caderina, um dos marcadores mais frequentemente utilizados para revelar EMT, está associada a um fenótipo mais invasivo em muitos tipos de carcinomas e adenocarcinomas humanos (4).

As junções aderentes compostas por E-caderina em conjunto com anéis de catenina e actina são componentes comuns das células epiteliais normais. As junções de oclusão estão associadas com os complexos de polaridade apical, ao passo que as integrinas interagem com componentes da membrana basal.

Durante a EMT, há uma perda da adesão célula-célula. Indutores de EMT reprimem a transcrição dos genes que codificam os componentes de aderência e das junções de oclusão, induzindo a perda da polaridade celular, sendo a E-caderina alvo da degradação.

A membrana basal entra em decomposição e há constrição apical da célula epitelial, com reflexos diretos na remodelação do citoesqueleto, o que favorecerá a delaminação das células e ingresso no conjuntivo subjacente.

A expressão de receptores para a integrina e ativação contínua de metaloproteases favorece a migração através da matriz extracelular e a invasão dos tecidos adjacentes (5).

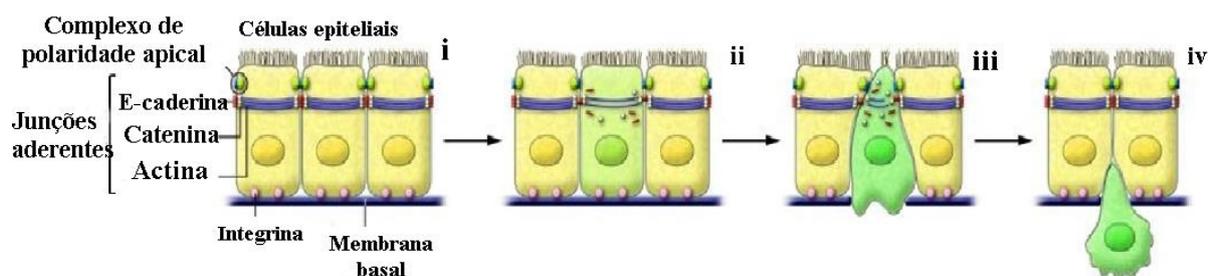


Figura 1: Esquema figurativo da dinâmica epitelial durante a EMT (legenda adaptada<sup>5</sup>).

A regulação da E-caderina tem sido amplamente estudada e, em muitos tumores, vários fatores de transcrição conhecidos por induzir a EMT, incluindo os fatores Snail1 / 2, ZEB1 / 2 e Twist1 / 2, funcionam como repressores diretos ou indiretos da E-caderina.



## 2. A EMT NO CÂNCER: A FACILITAÇÃO DO PROCESSO DE METÁSTASE

Visto que é um processo de disseminação celular de um tumor primário para um sítio novo, a metástase decorre de uma sucessão heterogênea de bioeventos, especialmente representados por: a) angiogênese; b) deslocamento e migração, c) invasão do estroma adjacente ao tumor; d) invasão da membrana vascular e intravasão; e) adesão das células tumorais às células circulantes; f) fixação e o crescimento de tumores secundários no órgão-alvo (6-8).

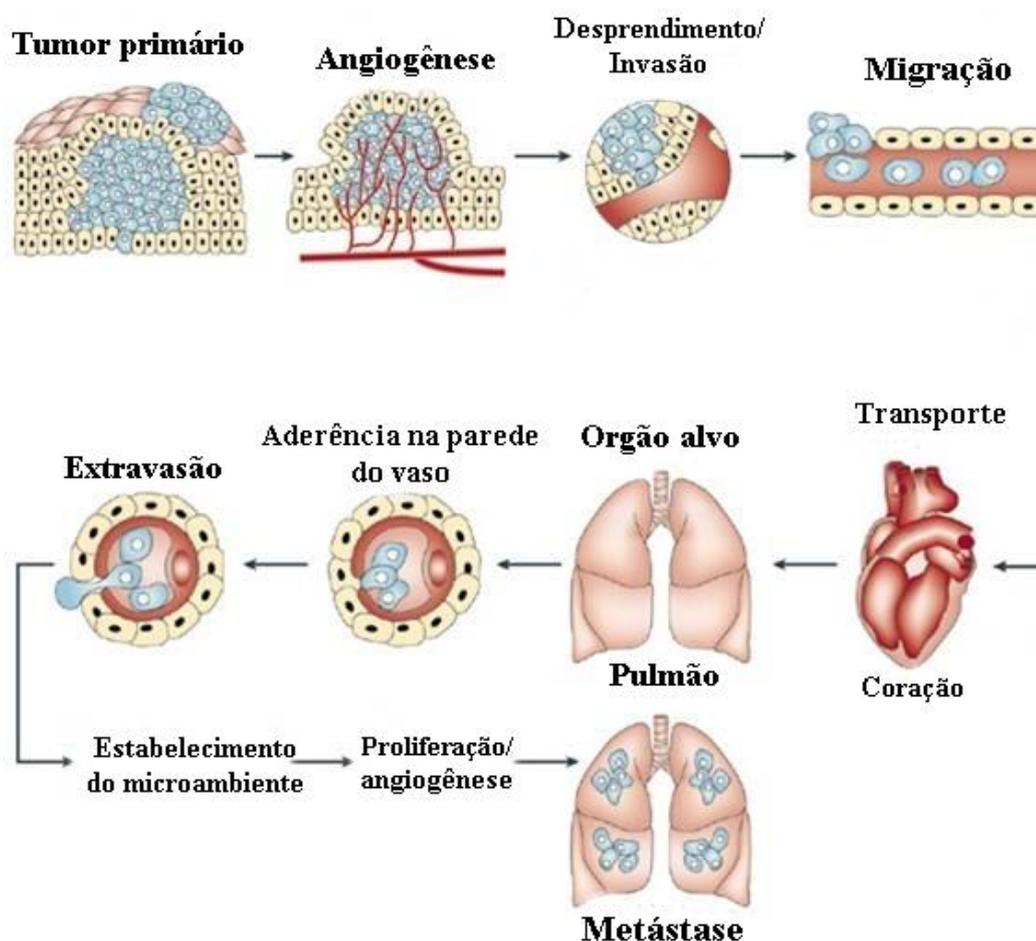


Figura 2: Representação figurativa das etapas do processo metastático (legenda adaptada <sup>7</sup>).



Nas neoplasias malignas, em especial nos carcinomas e adenocarcinomas, acredita-se que a ativação dos programas EMT esteja ligada à dissociação das células do tumor primário e sua intravasão nos vasos sanguíneos (2).

Estudos recentes mostram inequivocamente que a metástase requer uma estreita colaboração entre as células neoplásicas, as células imuno-inflamatórias e os elementos estromais do microambiente tumoral (MAT), a exemplo dos fibroblastos, endotélio e pericitos (9).

Em tumores epiteliais, o processo de metástase pode ser dividido em várias etapas e acredita-se que o primeiro passo seja representado pela transição Epitélio-Mesenquimal (TEM), evento no qual as células neoplásicas adquirem características fibroblastóides, que aumentam a sua motilidade e as permitem transpor epitélios de revestimentos/membranas basais, e alcançar os vasos sanguíneos e linfáticos eferentes.

A perda da expressão da E-caderina (um marcador de células epiteliais) é vista como um evento-chave nesse processo, e parece relacionar-se com a superexpressão, nos tumores, do gene Snail, um repressor da transcrição da E-caderina em células epiteliais (10).

O TGF $\beta$  também é um importante regulador da transição epitélio- mesenquimal. O TGF $\beta$  ativa as vias dos fatores de transcrição SMAD e MAPKs, que controlam a expressão de outros reguladores da transição Epitélio-Mesenquimal, como o TWIST.

O nome TWIST deve-se ao fato de que, em drosophila, o gene TWIST foi considerado como essencial para a gastrulação adequada, bem como para a geração de células da crista neural. A perda do gene é letal para a gastrulação e para a formação dos tecidos derivados da mesoderme, ocorrendo uma invaginação da endoderme, o que leva a uma torção do eixo dorso ventral do embrião, dando origem ao nome TWIST (em português: torção) (11).

As proteínas TWIST em humanos adultos são principalmente expressas em células precursoras, incluindo as linhagens miogênica, osteoblástica, condroblástica, odontoblástica e mielomonocítica, onde o gene é responsável por manter seu estado indiferenciado.

Por outro lado, a expressão do gene TWIST mostrou-se ativa em múltiplos carcinomas (mama, bexiga, pulmão, rim, cólon, estômago, pâncreas, ovário, próstata, boca e esôfago) e também em melanomas e sarcomas.

Os mecanismos que levam à reativação do gene TWIST em cânceres humanos já foram profundamente investigados, e seu papel na indução da EMT já está bem



estabelecido, e revelam, talvez, uma relação estreita entre a embriogênese e a tumorigênese (9).

Evidências crescentes sugerem que proteínas como o TWIST, em vez de serem indutores constitutivos da EMT, comportam-se como sensores, promovendo a EMT em resposta a sinais apropriados no microambiente tumoral (indução por meio de vias de sinalização independentes e complementares).

Ao promover EMT, as proteínas TWIST fornecem às células neoplásicas motilidade, aquisição de capacidades de auto-renovação, instabilidade cromossômica e possibilidade de secretar fatores angiogênicos, facilitando a disseminação e a metástase (12).

Curiosamente, o programa EMT pode ser utilizado até mesmo em em estágios pré - malignos, como já mostrado modelo experimental de câncer pancreático, especialmente em locais de inflamação (2).

### **3. O PROCESSO INFLAMATÓRIO DO MICROAMBIENTE TUMORAL (MAT) E SUA RELAÇÃO COM A INDUÇÃO DO EMT**

Recentemente, muita atenção tem sido dada ao processo inflamatório associado aos tumores, e foi descoberto que as células inflamatórias infiltrantes no microambiente tumoral desempenham papéis pró-tumorigênicos.

Subtipos de macrófagos associados a tumores (TAMs – do inglês: tumor-associated macrophages), células T reguladoras (TREGs) e células supressoras derivadas da linhagem mielóide (MDSC - do inglês: myeloid derived suppressor cells) foram identificados como promotores da progressão tumoral e metástase. Essas células produzem e secretam citocinas, como o fator de crescimento transformador beta (TGF- $\beta$ ), que pode induzir a EMT nas células neoplásicas (2).

Atualmente, muitas pesquisas na terapêutica do câncer baseiam-se na busca de fármacos para a reversão de EMT. Os inibidores de TGF $\beta$  são os compostos anti-EMT mais intensamente investigados, especialmente nos glioblastomas, carcinoma hepatocelular e adenocarcinoma do pâncreas (2).

Em adição, é amplamente aceito que as células passam por EMT para alcançar um nicho metastático desejável um novo tumor, e que a MET, no novo sítio metastático, é certamente influenciada por TAMs, que secretam fator de crescimento endotelial vascular – VEGF (2).



Vasos sanguíneos tumorais induzidos pela superexpressão do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) frequentemente apresentam junções célula-célula descontínuas e alterações nos pericitos (4).

Outro mecanismo pelo qual o ambiente inflamatório pode afetar a transição epitelial-mesenquimal é a indução, por meio das vias mediadas por STAT3 e NF- $\kappa$ B, da expressão do gene embrionário TWIST.

#### **4. A EMT PARA ALÉM DA AQUISIÇÃO DA CAPACIDADE MIGRATÓRIA**

Além de serem mais migratórias, as células em EMT exibem outras propriedades associadas à progressão e metástase do câncer. Nesse contexto, as células em EMT podem evitar a apoptose, inibindo as proteínas supressoras de tumor p16 e p21, além de serem mais resistentes à terapia citotóxica antineoplásica.

A resistência às drogas é frequentemente acompanhada de EMT e tem sido relatada em vários tipos de câncer, como o adenocarcinoma de mama e pâncreas.

Com efeito, altos níveis de vimentina foram detectados em linhagens de células resistentes à adriamicina, em modelos de câncer de pâncreas e de mama. Essas células resilientes representavam uma população heterogênea que possuía características típicas de EMT. Este experimento sugeriu que as células EMT apresentam vantagens nas capacidades de crescimento, em comparação com as células não EMT, após o tratamento com drogas (4).

#### **5. A EMT PARCIAL**

Nos estudos imuno-histoquímicas das células que desenvolvem a EMT, E-caderina, ocludinas e citoqueratinas são os marcadores mais comumente usados para o delinear o traço fenotípico epitelial, e N-caderina e vimentina, para especificar a diferenciação mesenquimal.

Entretanto, trabalhos recentes apontam para uma maior flexibilidade nesse processo de transição, e não mais se aceita que as células somente oscilem entre estados epiteliais e mesenquimais estáticos e completos, mas que se movam por um espectro de fases intermediárias. Esse caráter de plasticidade significa que as células podem permanecer em estágios intermediários, ou seja, podem desenvolver um programa de EMT que seja apenas parcial.



Nesse sentido, como dito acima, a visão dos estados epitelial e mesenquimal como episódios estáticos de perda ou ganho de características fenotípicas vem se modificando para a aceitação menos reducionista de uma transição parcial – um estado intermediário entre o epitelial e o mesenquimal – que em sido observada tanto no desenvolvimento embrionário, como nos organismos adultos, nos processos de inflamação e fibrose e, mais especialmente, na progressão de muitos carcinomas.

A evidência de estados EMT parciais vem de múltiplos contextos. A maioria dos estudos mostra a co-expressão de marcadores epiteliais e mesenquimais para definir o estado híbrido, mas tem sido visto que as células não precisam ganhar traços mesenquimais completos em um EMT parcial.

O processo de Transição Epitélio Mesenquimal se desenvolve não apenas na embriogênese normal como também em fibrose de órgãos e desenvolvimento cicatricial de feridas (13-15). De fato, o EMT inicial pode envolver apenas uma diminuição de propriedades epiteliais, como a perda da polaridade apicobasal, e um remodelamento de complexos juncionais.

Esses estados intermediários provavelmente refletem a frágil estabilidade entre a expressão de fatores transcricionais indutores e supressores de EMT.

Cabe mencionar, nesse sentido, que esse delicado equilíbrio pode ser, inevitavelmente, afetado por modificações epigenéticas (alterações de histonas e metilação do DNA) induzidas nas células neoplásicas pela inflamação associada ao microambiente tumoral, como já discutido em tópico específico deste trabalho.

## **CONCLUSÃO**

A transição Epitélio-Mesenquimal é um processo que converte células epiteliais em derivados mesenquimais, sendo considerado o mais importante programa genético de transdiferenciação no contexto da biologia celular.

Nas últimas duas décadas, uma série de evidências científicas sugeriram que o EMT ocorre durante o desenvolvimento embrionário para assegurar que Inter modificações de células sejam utilizadas na formação de diferentes tipos de tecidos, no intuito de estruturar a arquitetura dos órgãos e organismos multicelulares complexos. Este programa biológico é orquestrado por um grupo de fatores de transcrição (chamados fatores de transcrição indutores da EMT), tais como Snail, Zeb e Twist.



Células epiteliais, frequentemente com morfologia poligonal, são polarizadas ao longo de seu eixo apicobasal e são, no seu arcabouço lateral, firmemente conectados umas com as outras através de junções aderentes e tipo “tight”. Em contraste, células mesenquimais exibem morfologia do tipo fusiforme, e são frouxamente ligadas à matriz extracelular circunjacente através de fracas aderências focais. Essas características conferem motilidade e capacidade de migração (e invasão) a essas células (1).

Modelos experimentais de EMT têm sido extensivamente utilizados para elucidar o complexo mecanismo biológico associado à dispersão das neoplasias malignas a partir do tumor primário para sítios teciduais distintos (metástase).

Mais recentemente, foi estabelecido o conceito de um estado inacabado da EMT, o chamado “EMT parcial”, e tem sido demonstrado que essa condição intermediária é a que, de fato, ocorre durante o processo de desenvolvimento embrionário e, nos tecidos adultos, é reativado durante a cicatrização de feridas e fibrose, além de ter fundamental importância na biologia do câncer.

Nesse sentido, as pesquisas com EMT têm sido relevantes para elucidar a dinâmica tecidual e a plasticidade que caracterizam a vida embrionária, desmistificando, principalmente, a dicotomia que existe entre tecidos epiteliais e mesenquimais e mostrando que, no câncer, essa flexibilidade da diferenciação celular é de suma importância para as interações moleculares célula-célula e célula-matriz que são subjacentes aos processos de iniciação, desenvolvimento, progressão e disseminação dos tumores malignos (3).

## REFERÊNCIAS

1. Tao S, Yuan Q, Wei-long Z. Epithelial-Mesenchymal Transition and its Regulation in Tumor Metastasis. Intech. 2016 [citado dia 14 de Junho de 2018] ; 10:217-239. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/tumor-metastasis/epithelial-mesenchymal-transition-and-its-regulation-in-tumor-metastasis>.
2. Beerling E, Seinstra D, de Wit E, Kester L, van der Velden D, Maynard C, et al. Plasticity between Epithelial and Mesenchymal States Unlinks EMT from Metastasis-Enhancing Stem Cell Capacity. Cell Reports. 2016 [citado dia 14 de Junho de 2018] ;14(10):2281-2288. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26947068>.
3. Liao TT, Yang MH. Revisiting epithelial- mesenchymal transition in cancer metastasis: the connection between epithelial plasticity and stemness. Molecular Oncology. 2017 [citado dia 14 de Junho de 2018];11(7):792-804. Disponível em:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28649800>.
4. Karlsson MC, Gonzalez SF, Welin J, Fuxe J. Epithelial- mesenchymal transition in cancer metastasis through the lymphatic system. Molecular Oncology. 2017[citado dia 16 de Junho de 2018];11(7):781-791. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28590032>.
5. Acloque H, Adams MS, Fishwick K, Fraser MB, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions: the importance of changing cell state in development and disease. J Clin Invest.



- 2009 [citado dia 16 de Junho de 2018]; 6 (119):1438–1449. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2689100/>.
6. Hu YY1, Zheng MH, Zhang R, Liang YM, Han H. Notch signaling pathway and cancer metastasis. *Adv Exp Med Biol.* 2012 [citado dia 18 de Junho de 2018]; 727:186–198. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22399348>.
7. Fidler IJ. Pathogenesis of Cancer Metastasis: The “Seed and Soil” Hypothesis Revisited. *Nature Reviews Cancer.* 2003 [citado dia 18 de Junho de 2018]; 3 (6):453-8. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12778135>.
8. Daenen LG, Roodhart JM, van Amersfoort M, Dehnad M, Roessingh W, Ulfman LH, et al. Chemotherapy enhances metastasis formation via VEGFR-1-expressing endothelial cells. *Cancer Res.* 2011 [citado dia 18 de Junho de 2018]; 71: 6976–6985. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21975929>.
9. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, Inflammation, and Cancer. *Cell.* 2010 [citado dia 18 de Junho de 2018]; 140 (6): 883–899. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20303878>.
10. Silva CL. Inibição da metástase via transição Epitélio-Mesenquimal por SHRNA, METFORMINA e Y27632 em neoplasia mamária. [Tese]. São José do Rio Preto: Programa de Pós-Graduação em Genética, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”; 2016.
11. Bastid J, Ciancia C, Puisieux A, Ansieau S. Role of TWIST proteins in cancer progression. *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology.* 2009 [citado dia 19 de Junho de 2018]. Disponível em: <http://atlasgeneticsoncology.org/Deep/TWISTinCancerID20081.html>.
12. Wang Y, Liu J, Ying X, Lin PC, Zhou BP. Twist-mediated Epithelial-mesenchymal Transition Promotes Breast Tumor Cell Invasion via Inhibition of Hippo Pathway. *Sci. Rep.* 2016 [citado dia 22 de Junho de 2018]; 6: 24606. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/srep24606>
13. Moustakas A, de Herreros AG. Epithelial-mesenchymal transition in cancer. *Mol. Oncol.* 2017 [citado dia 22 de Junho de 2018]; 11, 715–717. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28677253>.
14. Nieto MA, Huang RY, Jackson RA, Thiery JP.. EMT: 2016. *Cell* 2016 [citado dia 29 de Junho de 2018]; 166, 21–45. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27368099>.
15. Lambert AW, Pattabiraman DR, Weinberg RA. Emerging Biological Principles of Metastasis. *Cell* 2017 [citado dia 23 de Junho de 2018]; 168, 670–691. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28187288>.