

Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”

UNIGRANRIO

JULIA BAHIA PONTES

**EFEITO DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA (ACETATO E BUTIRATO) NA
TRANSIÇÃO EPITÉLIO MESENQUIMAL DE CÉLULAS DE CARCINOMA
PULMONAR DA LINHAGEM A549**

RIO DE JANEIRO

2025

Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”
UNIGRANRIO

JULIA BAHIA PONTES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza
Herdy”, como requisito parcial para a obtenção do
título de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Suelen Martins Perobelli

RIO DE JANEIRO
2025

JULIA BAHIA PONTES

EFEITO DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA (ACETATO E BUTIRATO) NA
TRANSIÇÃO EPITÉLIO MESENQUIMAL DE CÉLULAS DE CARCINOMA
PULMONAR DA LINHAGEM A549

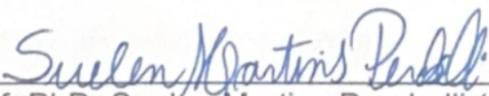
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade do Grande Rio "Prof. José de Souza
Herdy", como requisito parcial para a obtenção do
título de Bacharel em Biomedicina.

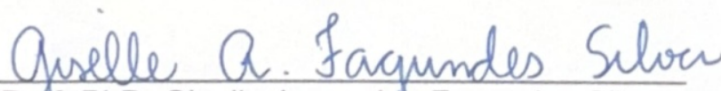
Orientadora: Suelen Martins Perobelli

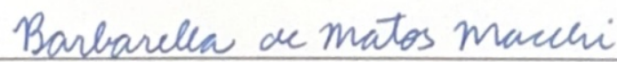
Aprovada em:

Barra da Tijuca, 17 de novembro de 2025.

BANCA EXAMINADORA


Prof. PhD. Suelen Martins Perobelli (orientador)


Prof. PhD. Giselle Aparecida Fagundes Silva


PhD. Barbarella de Matos Macchi

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha família, que sempre serviu de base e porto seguro. Em especial, aos meus pais, pelo apoio incondicional em cada escolha, cada passo e cada momento de incerteza ao longo dessa caminhada acadêmica. A minha avó Gina, que me espera semanalmente com um prato de comida quentinho, gesto simples, mas que representou acolhimento, cuidado e afeto nos dias mais cansativos. Aos meus avós Irene e João, pela companhia, pelas conversas infinitas e pelas partidas de buraco, que tantas vezes foram o respiro perfeito diante da correria da graduação.

Agradeço também aos meus amigos que tornaram a rotina universitária mais leve. Em especial, aos amigos da faculdade, com quem compartilhei risadas, cansaços, provas, apresentações, estresses e desabafos. E um agradecimento especial a minha amiga Giselle Carvalho, parceira de carona e de sobrevivência acadêmica, porque, sem as nossas idas e vindas, os quatro anos não teriam sido possíveis (ou, pelo menos, seriam bem mais difíceis).

Ao Laboratório de Pesquisa do Timo da Fiocruz, expressei minha profunda gratidão. Foi nesse espaço que este trabalho realmente ganhou vida, onde tive a oportunidade de aprender, errar, testar, pensar e crescer como futura profissional e cientista. Agradeço especialmente a minha orientadora, Suelen Perobelli, por sua disponibilidade, paciência e por sempre acreditar na minha capacidade. Sua orientação não foi apenas acadêmica, foi humana, cuidadosa e formativa. E deixo também, um agradecimento especial a Liliane Tenório, que esteve ao meu lado ao longo do desenvolvimento deste projeto, contribuindo ativamente com discussões, análises, ideias, apoio técnico e científico. Agradeço ao pesquisador Wilson Savino, orientador do grupo, pela oportunidade ímpar de fazer parte de um laboratório tão rico em conhecimento, troca e ciência de verdade.

A todos que, direta ou indiretamente, fizeram parte dessa trajetória — muito obrigada. Este trabalho carrega um pedaço de cada um de vocês.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática da indução da transição epitélio-mesenquimal (TEM) e sua relação com a plasticidade epitelial-mesenquimal em células cancerígenas.....	10
Figura 2 - Representação da plasticidade epitélio-mesenquimal em células cancerígenas induzidas por TGF- β 1	11
Figura 3 - Análise morfológica das células A549 na indução da transição epitélio mesenquimal	17
Figura 4 - Expressão da F-actina em células A549	18
Figura 5 – Análise morfométrica do butirato na modulação morfológica induzida por TGF- β 1 em células A549	19
Figura 6 - Efeito de diferentes concentrações de butirato sobre a morfologia de células A549	20
Figura 7 - Efeito do butirato (5 mM) sobre marcadores epiteliais e mesenquimais em células A549 tratadas com TGF- β 1	21
Figura 8 - Análise morfométrica dos efeitos do acetato em células A549 tratadas com TGF- β 1.....	22
Figura 9 - Efeito do acetato em diferentes concentrações sobre a morfologia de células A549	23
Figura 10 - Efeito do acetato (40uM) sobre marcadores epiteliais e mesenquimais em células A549 tratadas com TGF- β 1.....	24
Figura 11 – Análise morfométrica dos efeito combinado de butirato (5 mM) e acetato (40 uM) sobre a TEM induzida por TGF- β 1 em células A549.....	25

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
3 METODOLOGIA	14
4 RESULTADOS.....	16
5 DISCUSSÃO	26
6 CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS	30

EFEITO DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA (ACETATO E BUTIRATO) NA TRANSIÇÃO EPITÉLIO MESENQUIMAL DE CÉLULAS DE CARCINOMA PULMONAR DA LINHAGEM A549

Julia Bahia Pontes¹

Wilson Savino²

Suelen Martins Perobelli³

RESUMO

O câncer de pulmão é uma das principais causas de mortalidade por neoplasias no mundo, em grande parte devido ao seu alto potencial metastático. A metástase envolve a capacidade da célula tumoral de se desprender do tumor primário, migrar, invadir tecidos distantes e se adaptar a novos microambientes. Neste contexto, a transição epitélio-mesenquimal (TEM) é um processo chave, pois confere à célula tumoral um fenótipo mais migratório, invasivo e resistente, favorecendo a formação de metástases. Considerando o potencial modulador dos metabólitos derivados da microbiota intestinal em tumores, este estudo teve como objetivo avaliar se ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), butirato e acetato, poderiam modular a TEM induzida por TGF- β 1 em células A549 de adenocarcinoma pulmonar humano. A exposição ao TGF- β 1 promoveu alterações morfológicas compatíveis com o fenótipo mesenquimal, caracterizadas por alongamento celular e perda de adesão, confirmando a indução da TEM. O tratamento com butirato, após a indução da TEM, especialmente na concentração de 5 mM, mostrou potencial em preservar o fenótipo epitelial, com células mais compactas, núcleos centrais e maior circularidade, indicando efeito inibitório sobre a transição. O acetato apresentou resposta mais discreta, sendo mais efetivo na concentração de 40 μ M, com redução parcial da elongação e reorganização do citoesqueleto. A combinação de butirato e acetato potencializou esses efeitos, promovendo morfologia mais homogênea e diminuição dos sinais de migração celular, mesmo após a indução de TEM com TGF- β 1. Esses resultados sugerem que os AGCC (especialmente butirato) podem modular a resposta celular ao TGF- β 1, possivelmente por mecanismos epigenéticos e de sinalização celular, reforçando o potencial desses metabólitos como moduladores da progressão tumoral e de metástases no câncer de pulmão.

Palavras-chave: Ácidos graxos de cadeia curta. Butirato. Acetato. Transição Epitélio Mesenquimal. Célula A549.

¹ Graduando(a) do curso de Biomedicina na Universidade do Grande Rio – UNIGRANRIO

² Biólogo, Doutor em Ciências Biológicas, Docente da Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ

³ Bióloga, Doutora em Ciências Imunológica, Docente da Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ – e da Universidade Veiga de Almeida – UVA

ABSTRACT

Lung cancer remains one of the leading causes of cancer-related mortality worldwide, largely due to its high metastatic potential. Metastasis involves the ability of tumor cells to detach from the primary site, migrate, invade distant tissues, and adapt to new microenvironments. In this context, epithelial-mesenchymal transition (EMT) is a key process, as it confers tumor cells with a more migratory, invasive, and resistant phenotype, favoring metastatic spread. Considering the modulatory potential of metabolites derived from the gut microbiota, this study investigated whether short-chain fatty acids (SCFAs), butyrate and acetate, could modulate TGF- β 1 induced EMT in A549 human lung adenocarcinoma cells. Exposure to TGF- β 1 promoted morphological alterations consistent with a mesenchymal phenotype, characterized by cellular elongation and loss of intercellular adhesion, confirming EMT induction. Treatment with butyrate, particularly at a concentration of 5 mM, preserved the epithelial phenotype, with more compact cells, centralized nuclei, and increased circularity, indicating an inhibitory effect on the transition. Acetate showed a milder response, being more effective at 40 μ M, with partial reduction of elongation and reorganization of the actin cytoskeleton. The combination of butyrate and acetate enhanced these effects, promoting a more homogeneous morphology and reduced signs of cellular migration. These findings suggest that SCFAs significantly modulate the cellular response to TGF- β 1, possibly through epigenetic regulation and cellular receptor signaling, reinforcing their potential as modulators of tumor progression in lung cancer.

Keywords: Short-chain fatty acids. Butyrate. Acetate. Epithelial-Mesenchymal Transition. A549 cell.

1 INTRODUÇÃO

O câncer de pulmão é uma das principais causas de mortalidade por câncer no mundo, representando aproximadamente 18% de todas as mortes por doença maligna globalmente (GLOBOCAN 2020). De acordo com critérios histológicos, esse tumor é classificado em dois grandes grupos: carcinoma de pequenas células (CPC) e carcinoma de células não pequenas (CNPC), que apresentam diferenças significativas em origem, comportamento biológico e resposta terapêutica (SIEGEL et al., 2020; HIRSCH et al., 2017).

O CPC é caracterizado por células pequenas e pouco diferenciadas, de crescimento rápido e alta taxa de proliferação, sendo fortemente associado ao tabagismo e geralmente diagnosticado em estágios avançados, com tendência precoce à metástase (KIM et al., 2025). Já o CNPC, responsável por cerca de 85% dos casos, compreende diferentes subtipos histológicos, incluindo adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas e carcinoma de grandes células, originados predominantemente das células epiteliais das vias aéreas e alvéolos (DURHAM et al., 2019). Entre esses subtipos, o adenocarcinoma pulmonar é o mais frequente, especialmente em não fumantes, e caracteriza-se por arquitetura glandular e expressão de marcadores epiteliais como a citoqueratina e a e-caderina (TRAVIS et al., 2015). Essa diversidade histológica reflete não apenas diferentes origens celulares, mas também perfis moleculares e mecanismos de progressão distintos, justificando o crescente interesse em compreender vias celulares associadas a invasão e metástase, como a transição epitélio-mesenquimal (TEM).

A metástase é caracterizada pela propagação das células tumorais para órgãos distantes, e no câncer de pulmão apresenta uma alta incidência. Aproximadamente 57% dos pacientes recebem o diagnóstico já em estágio metastático, o que contribui significativamente para o prognóstico desfavorável da doença (HOWLADER et al., 2018). Os órgãos mais frequentemente acometidos por metástases do câncer de pulmão incluem o fígado, ossos, cérebro e glândulas suprarrenais (HEIGENER et al., 2020). Essa alta propensão a disseminação sistêmica reflete a natureza agressiva do tumor e está associada a ativação de mecanismos celulares como a transição epitélio-mesenquimal (TEM), que favorece a perda de adesão e o aumento da motilidade celular, permitindo o escape das células neoplásicas do sítio primário.

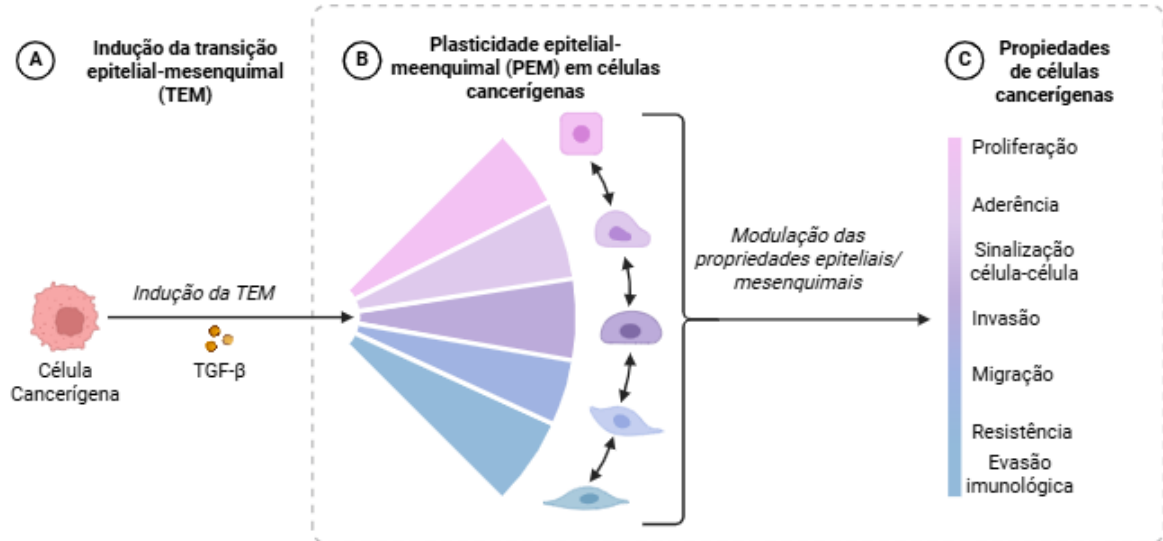
O estabelecimento das metástases está relacionado a alta capacidade das células tumorais de migrar e invadir órgãos secundários, adaptando-se a homeostasia tecidual e alterando o equilíbrio a seu favor. Essa seletividade na disseminação metastática foi proposta inicialmente por Stephen Paget (1889) na clássica “hipótese da semente e do solo”, que descreve a tendência das células tumorais (“sementes”) de crescerem apenas em ambientes propícios (“solo”) que favoreçam sua sobrevivência e proliferação. Desde então, estudos têm demonstrado que a interação dinâmica entre as células metastáticas e o microambiente do órgão-alvo, mediada por fatores de crescimento, moléculas de adesão e remodelamento da matriz extracelular, é determinante para o sucesso da metástase (PAGET et al., 1889; FIDLER et al., 2003).

Mudanças tanto nas células do tumor de origem, quanto nos tecidos-alvo, e a participação do sistema imune, desempenham papéis fundamentais na doença metastática (PSAILA; LYDEN, 2009). O processo metastático é sequencial e influenciado pela interação entre as células tumorais com células e fatores do microambiente do órgão a ser colonizado (POSTE; FIDLER, 1980). Células tumorais podem produzir mediadores que irão atuar local ou sistemicamente no crescimento tumoral e metastático. Células do estroma e do parênquima tecidual próximos ao tumor tem suas funções alteradas, e células do sistema imune como as MDSC (células tronco mieloides derivadas) e neutrófilos podem atuar amplificando e favorecendo o desenvolvimento tumoral (TLSTY et al., 2006; MCALLISTER et al., 2010).

A transição epitélio-mesenquimal (TEM) é um fenômeno de plasticidade celular no qual células epiteliais altamente organizadas perdem suas características originais, como adesão célula-célula e polaridade apico-basal, e passam a adquirir um fenótipo mesenquimal, caracterizado por maior motilidade, alongamento celular e capacidade de invasão tecidual (Figura 1) (JOLLY et al., 2018; DONGRE et al., 2019). Trata-se de um processo dinâmico e reversível, fundamental tanto em condições fisiológicas, como na embriogênese e cicatrização de feridas, quanto em contextos patológicos, especialmente na progressão tumoral e metástase (LIAO et al., 2017; ZEISBERG et al., 2009). Durante a TEM, ocorre a supressão de marcadores epiteliais, como a e-caderina e a citoqueratina, e o aumento da expressão de proteínas mesenquimais, como vimentina e fibronectina, promovendo um fenótipo compatível com migração celular ativa e remodelamento da matriz

extracelular. Desta forma, a TEM têm se mostrado fundamental na progressão e metastatização do câncer em diversos órgãos e tecidos (YEUNG et al., 2017).

Figura 1 - Representação esquemática da indução da transição epitélio-mesenquimal (TEM) e sua relação com a plasticidade epitelial-mesenquimal em células cancerígenas



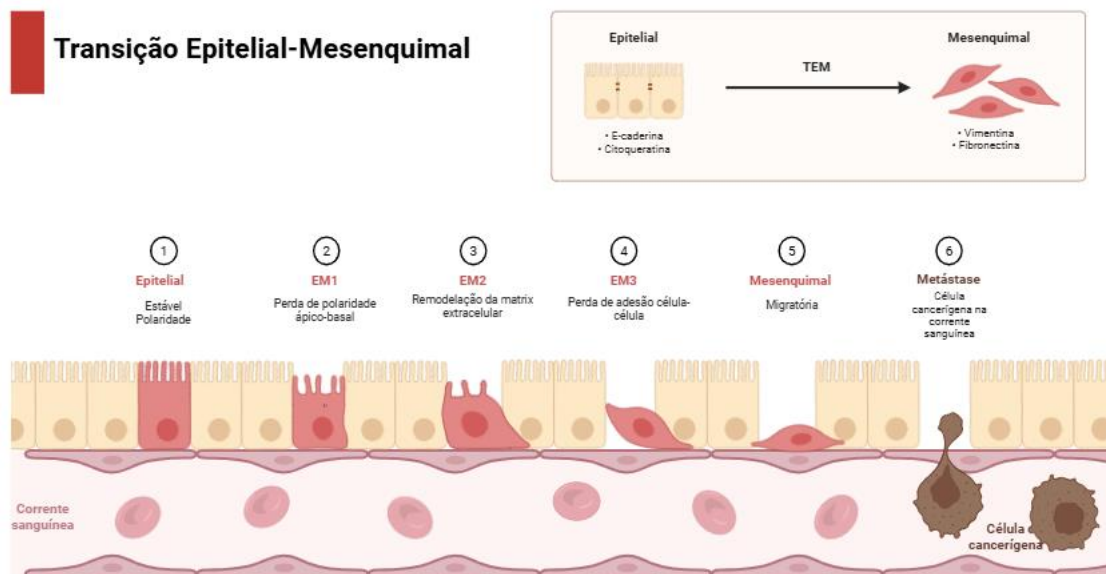
A exposição ao TGF- β atua como estímulo inicial (A), desencadeando a perda gradual de características epiteliais e aquisição progressiva de traços mesenquimais (B). Essa mudança fenotípica inclui algumas propriedades funcionais do câncer (C), incluindo proliferação, adesão, sinalização entre células, migração, invasão, resistência terapêutica e evasão imune. Fonte: adaptado de Kuburich et al., 2023.

Nos carcinomas epiteliais, as células do tumor primário podem sofrer TEM induzida por substâncias liberadas no ambiente tumoral, permitindo que células com características mesenquimais migrem através da corrente sanguínea e se estabeleçam em órgãos secundários (KREBS et al., 2017). Em alguns casos, porém, as adesões célula-célula são mantidas na migração coletiva (PULFORD et al., 2022; YANG et al., 2020).

Como relatado anteriormente, a TEM pode ser desencadeada por sinais extracelulares provenientes do microambiente, e estes podem incluir por exemplo o TGF- β 1, proteínas morfogênicas ósseas (BMPs), Wnt- β -catenina, Notch, fator de crescimento de fibroblastos (FGF), sinalização por integrinas, e/ou eventualmente metabólitos microbianos sistêmicos. Entre esses sinais, o TGF- β 1 ocupa papel central por ser um dos principais indutores da TEM em tumores. Dependendo do estágio tumoral, o TGF- β 1 pode atuar tanto quanto supressor tanto quanto um promotor tumoral (MASSAGUÉ et al., 2008). Em tumores iniciais, pode atuar como

supressor tumoral, induzindo parada de ciclo ou apoptose, porém, em estágios mais avançados, o TGF- β 1 promove características que favorecem a TEM. As células malignas remodelam suas vias de sinalização de modo que o TGF- β 1 passa a funcionar como promotor tumoral, estimulando motilidade, perda de adesão, remodelação de matriz e aquisição de fenótipo mesenquimal, características essenciais na plasticidade epitélio-mesenquimal (Figura 2).

Figura 2 - Representação da plasticidade epitélio-mesenquimal em células cancerígenas induzidas por TGF- β 1



A imagem ilustra a progressão da Transição Epitelial-Mesenquimal (TEM), destacando as mudanças estruturais e funcionais das células epiteliais durante o processo metastático. Inicialmente, as células apresentam polaridade e forte adesão célula-célula (E-caderina). À medida que atravessam os estágios EM1, EM2 e EM3, ocorre perda da polaridade, remodelação da matriz extracelular e redução da adesão. As células adquirem características mesenquimais, como expressão de vimentina e fibronectina, tornando-se migratórias e capazes de invadir a corrente sanguínea, contribuindo para a formação de metástases. Fonte: adaptado de Nieto et al., 2016.

Desta forma, a TEM é um processo complexo e que eventualmente pode ser reversível. De fato, existem alguns estudos sobre a inibição da TEM no contexto do câncer, dada sua influência sobre metástase e deposição de matriz extracelular no tecido tumoral (DATTA et al., 2021; DONGRE et al., 2019; LIM et al., 2012). Atualmente, o TGF- β 1 é alvo de potenciais terapias no câncer, envolvendo diversos inibidores das vias de sinalização do TGF- β 1 em estudos clínicos de fase I e fase II (SHOU et al., 2023). Apesar de existirem estudos que demonstram a reversão da TEM, incluindo tratamentos que envolvem a modulação de TGF- β 1, a grande maioria desses trabalhos trata de medicamentos imunoterápicos, que, embora

específicos, podem alterar a resposta imune, prejudicando o paciente com efeitos adversos. Portanto, uma alternativa terapêutica preventiva ou complementar, possivelmente menos tóxica e capaz de aumentar a sobrevida do paciente, seria mais interessante e necessária.

Neste sentido, os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), como o butirato e o acetato, tem demonstrado um potencial efeito em contextos tumorais. Os AGCC são metabólitos microbianos essenciais para o metabolismo celular, eles são produzidos pela microbiota intestinal durante a fermentação de fibras alimentares não digeríveis no intestino (LI et al. 2023). Além de suas funções metabólicas, os AGCC desempenham papéis importantes na sinalização celular, influenciando processos inflamatórios e imunológicos, como de proteção da barreira, na conversão de Tregs intestinais, e modulação de doenças inflamatórias e tumores, como os pulmonares, pelo eixo intestino-pulmão (ARPAIA et al., 2013; ATARASHI et al., 2011; TAN et al., 2014; VENEGAS et al., 2019; VERMA et al., 2024).

Os AGCC atuam mediante dois mecanismos principais: (i) ativação de receptores acoplados a proteína G (GPCRs), como FFAR2 (GPR43), FFAR3 (GPR41) e GPR109A, desencadeando cascatas de sinalização intracelular que modulam processos de inflamação, apoptose e proliferação celular; e (ii) inibição de histonas desacetilases (HDACs), promovendo abertura na cromatina e ativação de genes supressores tumorais (FEITELSON et al., 2023; VERMA et al., 2024). Estudos mostram que AGCC podem apresentar propriedades antitumorais, envolvendo capacidade de interferir nas vias de sinalização de proliferação, invasão e metástase (KOH et al., 2016). Desta forma, alterações significativas na composição da microbiota, ou seja, disbiose, tem sido associada a pacientes com câncer de pulmão, marcada pela alteração de bactérias produtoras de ácido graxos de cadeia curta (MANOHARAN et al., 2025).

O butirato tem sido associado a efeitos antiproliferativos e a indução de apoptose em células cancerígenas, por meio da regulação do ciclo celular e de vias de sinalização relacionadas ao câncer, além de inibir a migração e invasão celular, processos fundamentais para a metástase (FEITELSON et al., 2023; HAMER et al., 2008; CANANI et al., 2011; KOH et al., 2016). O acetato exerce influência no metabolismo energético das células tumorais e sobre vias de sinalização associadas ao rearranjo do citoesqueleto, afetando diretamente a resposta celular do TGF- β 1, podendo diminuir sua capacidade de promover características invasivas e

metastáticas, como a capacidade de proliferação e migração dessas células (PARK et al., 2021; KOH et al., 2016).

Estudos sugerem que o acetato reduz a TEM em células de carcinoma pulmonar, por suprimir a expressão de genes associados a TEM (LYU et al., 2022). O butirato, por sua vez, também tem sido associado à potencialização da citotoxicidade da cisplatina em células de câncer de ovário, especialmente em linhagens resistentes, ao induzir a expressão de e-caderina e reverter características mesenquimatosas associadas à TEM (ZHANG et al., 2023; MRKVICOVA et al., 2019). No entanto, os efeitos puros ou combinados desses AGCC em células de câncer de pulmão, especificamente em modelos celulares como a linhagem A549, que será utilizada neste estudo, ainda não foram amplamente investigados. Este projeto visa explorar o papel dos AGCC, acetato e butirato, na modulação da TEM no câncer de pulmão, avaliando seu impacto na reversão desse processo e seu potencial de modular a progressão metastática.

Esse projeto tem como objetivo geral avaliar o efeito modulador dos ácidos graxos de cadeia curta (butirato e acetato) na transição epitélio-mesenquimal (TEM) de células de A549 (linhagem celular de adenocarcinoma epitelial alveolar humano) induzida por TGF- β 1, investigando um possível potencial anti-metastático destes compostos.

E, como objetivos específicos: Padronizar a indução da transição epitélio-mesenquimal (TEM) em cultura, utilizando a linhagem celular A549 estimulada com TGF- β 1; estabelecer o protocolo de coloração histológica com cristal violeta, bem como a aquisição de imagens em microscópio óptico invertido afim de realizar a caracterização morfológica (circularidade e *aspect ratio* — relação entre largura e altura), das células da linhagem A549 estimuladas com TGF- β 1; realizar curvas dose-resposta independentes para o acetato e o butirato, utilizando as concentrações (10uM, 20uM, 40uM e 80uM) e (2mM, 2.5mM, 5mM e 10mM), respectivamente, no estímulo das células A549, a fim de identificar a faixa mais eficiente para modulação fenotípica relacionada a TEM induzida por TGF- β 1; após a definição das doses ideais de cada AGCC, avaliar a ação combinada do acetato e do butirato (nas concentrações 40uM e 5mM, respectivamente) na modulação da TEM induzida por TGF- β 1; e, padronizar a marcação por imunofluorescência para o filamento de citoesqueleto (actina) e para as proteínas epiteliais (citoqueratinas) e mesenquimais (vimentina), em linhagem A549 estimulada com TGF- β 1 e tratada

com acetato, butirato ou a combinação de ambos, utilizando microscopia de fluorescência para aquisição das imagens.

3 METODOLOGIA

3.1 CULTIVO E MANUTENÇÃO DAS CÉLULAS A549

As células de linhagem A549, derivadas de um adenocarcinoma epitelial humano alveolar tipo II, foram descongeladas em banho maria a 37°C e transferidas para um tubo 'falcon' de 15ml contendo meio de cultura "DMEM high glucose" suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB). As células foram centrifugadas a 1500 rpm por 5 minutos a uma temperatura de 10°C e ressuspensas em meio fresco. Este meio de cultura fornece os nutrientes essenciais para o crescimento celular. As células foram semeadas em garrafas de cultura de 75ml contendo 15mL de meio DMEM suplementado com 10% de SFB e mantidas a 37°C em estufa com 5% de CO₂ até atingirem aproximadamente 80% de confluência. Esse cuidado na manutenção das células é fundamental para garantir a viabilidade e a homogeneidade das amostras antes dos experimentos.

3.2 INDUÇÃO DA TRANSIÇÃO EPITÉLIO-MESENQUIMAL (TEM)

As células A549 foram contadas na câmara de *Neubauer* junto com o corante Azul de Tripán, que funciona como teste de exclusão: células viáveis mantêm a membrana íntegra e não absorvem o corante, enquanto células inviáveis permitem a entrada do Azul de Tripán e são visualizadas em azul. Em seguida foram plaqueadas em lâminas 'Lab-Tek permanox' de 8 poços na densidade de 7x10³ células/poço, utilizando meio DMEM + 15% de SFB. Após 24 horas de incubação (período necessário para adesão e estabilização), a TEM foi induzida mediante tratamento com 10 ng/mL de TGF-β1 por poço, concentração amplamente documentada na literatura como efetiva para desencadear o fenótipo mesenquimal em células epiteliais. As culturas foram mantidas por 48 horas sob esse estímulo antes da fixação.

3.3 TRATAMENTO COM ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA (AGCC)

Paralelamente a indução da TEM, as células foram submetidas a tratamentos com AGCC para avaliar sua possível ação moduladora sobre a transição celular. Foram testadas as concentrações de butirato (2, 2.5, 5 e 10 mM) e

acetato (10, 20, 40 e 80 μ M), curva dose feita por meio da literatura, aplicadas de forma isolada e em combinação com o estímulo de TGF- β 1. Além disso, para análise da ação combinada dos AGCC, a seguinte condição foi utilizada: 5 mM butirato + 40 μ M acetato, com e sem TGF- β 1 associado. Após 48 horas de exposição aos estímulos, as células foram fixadas com 0,4% de paraformaldeído (PFA), e em seguida foram realizadas as colorações com cristal violeta ou marcações para imunofluorescência.

3.4 COLORAÇÃO CITOLÓGICA E ANÁLISE MORFOLÓGICA

Para avaliação inicial da morfologia das células A549 após os diferentes tratamentos, foi realizada a coloração citológica com cristal violeta, corante amplamente utilizado para evidenciar o corpo celular e permitir visualização do contorno e da distribuição das células em cultura. Após o tempo de incubação (5 minutos), o excesso de corante foi removido por lavagem com água destilada e as lâminas foram deixadas para secagem. A aquisição das imagens foi realizada em microscópio óptico invertido (Olympus CKX31, Toquio, Japão), com os mesmos parâmetros de aumento e exposição entre os grupos para padronização de forma a possibilitar comparação direta entre os grupos avaliados. As imagens obtidas foram utilizadas para a avaliação qualitativa da morfologia celular realizada a partir das imagens adquiridas, utilizando o software *ImageJ Fiji*®, no qual foram mensurados parâmetros morfométricos, incluindo circularidade e *aspect ratio* com o objetivo de quantificar alterações estruturais associadas à TEM. A circularidade representa a quão próxima a célula está de um formato arredondado (valores próximos de 1 indicam células mais redondas, típicas de fenótipo epitelial). Já o *aspect ratio* reflete o grau de alongamento celular (relação entre o eixo maior e menor; quanto maior o valor, mais alongada é a célula, característica associada ao fenótipo mesenquimal). Os valores numéricos obtidos a partir das medições foram organizados em planilhas e posteriormente analisados estatisticamente no *GraphPad Prism*® versão 9.2, onde foram gerados gráficos comparativos entre os diferentes grupos de tratamento, permitindo a interpretação da influência dos AGCC sobre o fenótipo epitelial e as alterações morfológicas induzidas pelo TGF- β 1.

3.5 IMUNOFLUORESCÊNCIA

Após a fixação com (PFA) (descrita no item 3.3), as células foram permeabilizadas com solução PBS + Triton X-100 (0,05%) e bloqueadas com solução PBS + 1% BSA + 8% SFB, visando reduzir ligações inespecíficas durante a etapa subsequente de imunomarcação.

Em seguida, as células A549 foram incubadas com anticorpos primários e secundários específicos. O uso de faloidina conjugada a Alexa Fluor (AF 488) para coloração da F-actina permite uma visualização clara da estrutura citoesquelética, fundamental para entender as mudanças morfológicas associadas à TEM. Outros marcadores utilizados foram os anticorpos anti-citoqueratina purificado produzido em ratos com reatividade para humanos (marcador epitelial), e seu secundário anti-rato IgG AF546 feito em cabra; anti-vimentina de humano feita em coelho (marcador mesenquimal), e seu secundário anti-coelho IgG AF488 feito em cabra; anti-fibronectina de humano feita em coelho, como marcador de matriz extracelular, e seu secundário anti-coelho IgG AF546 feito em cabra, e, por fim, coloração nuclear foi realizada com DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol), corante fluorescente que se liga ao DNA e permite a visualização dos núcleos celulares sob microscopia de fluorescência. As amostras foram visualizadas por microscopia de fluorescência (Axiolmager A2 -AxioVision Rel 4.8 148 software, Zeiss, Alemanha) e microscopia confocal (Leica TSC-SP8 151 Microscópio de Scanner a Laser Confocal, Wetzler, Alemanha).

4 RESULTADOS

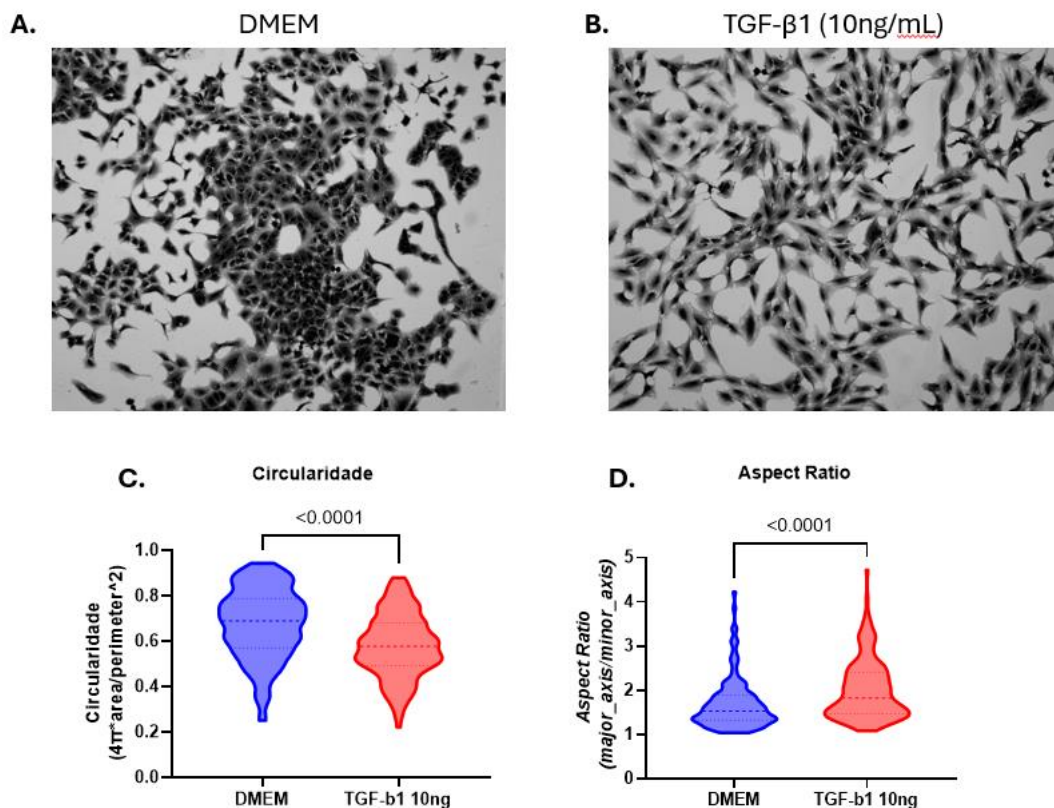
4.1 INDUÇÃO DA TRASIÇÃO EPITÉLIO MESENQUIMAL

Para avaliar a indução e a modulação da Transição epitélio-mesenquimal, células da linhagem A549 foram cultivadas e tratadas conforme descrito na metodologia, sendo submetidas a estimulação com TGF- β 1 (10ng/mL) e aos diferentes tratamentos com ácido graxos de cadeia curta (butirato e acetato) isolados ou em combinação. Após 48 horas de incubação, as células foram fixadas, coradas com cristal violeta e analisadas por microscópio óptico invertido. As imagens obtidas foram avaliadas quantitativamente por parâmetros morfométricos utilizando o software *ImageJ*.

O grupo controle negativo, tratado apenas com o meio de cultura, apresentou células A549 com morfologia epitelial típica, contornos regulares, núcleos centrais e distribuição uniforme (Figura 3A). Após a exposição ao TGF- β 1 (10ng/mL),

observou-se redução da adesão célula-célula, aspecto mais alongado e fusiforme, também foi possível observar diminuição da densidade celular em algumas áreas do campo e maior espaçamento entre as células, sugerindo aumento da motilidade e afrouxamento das junções intercelulares (Figura 3B). Após a aquisição de imagens e análise morfométrica, foi possível observar uma redução significativa ($p < 0,001$) da circularidade e aumento do *aspect ratio* (relação entre largura e altura) nas células tratadas com TGF- β 1, evidenciando a aquisição de um fenótipo mais fusiforme e compatível com a transição epitélio-mesenquimal.

Figura 3 - Análise morfológica das células A549 na indução da transição epitélio mesenquimal



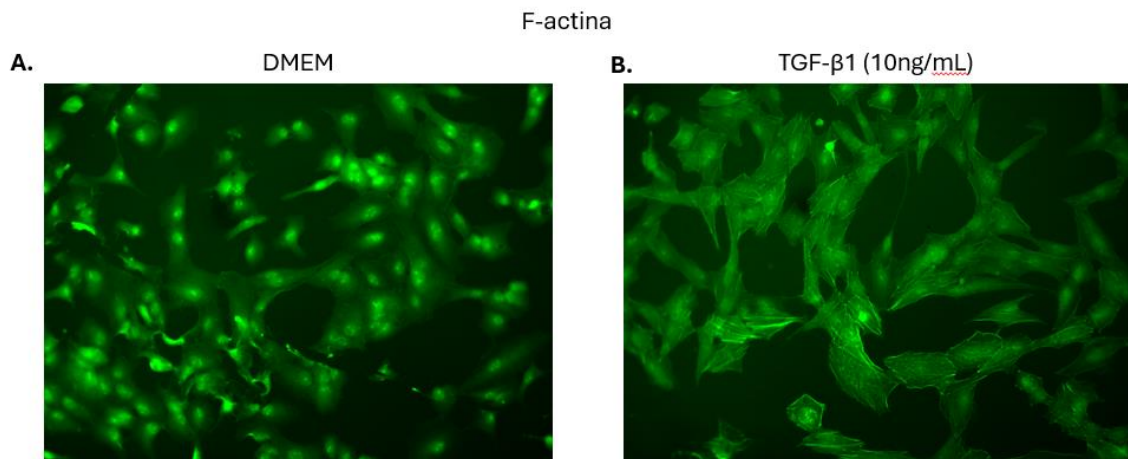
Células A549 coradas com cristal violeta. (A) grupo controle cultivado apenas em DMEM. (B) células tratadas com TGF- β 1 (10 ng/mL) por 48h. Análise morfométrica dos parâmetros de circularidade (C) e aspect ratio obtidos a partir das imagens microscópicas. Fonte: do Autor.

Nas imagens de imunofluorescência também foi possível observar visualmente, um padrão compatível com indução da TEM (Figura 4). No controle (Figura 4A), a F-actina apresenta distribuição mais homogênea e aspecto compatível com morfologia epitelial. No grupo TGF- β 1 (Figura 4B), observa-se reorganização dos filamentos em feixes mais paralelos e evidentes, com células alongadas e

características compatíveis com fenótipo mesenquimal, como a presença de fibras de estresse, indicando indução morfológica da transição epitélio-mesenquimal.

Esses achados, ainda que qualitativos, reforçam a mudança fenotípica induzida pelo TGF- β 1.

Figura 4 - Expressão da F-actina em células A549

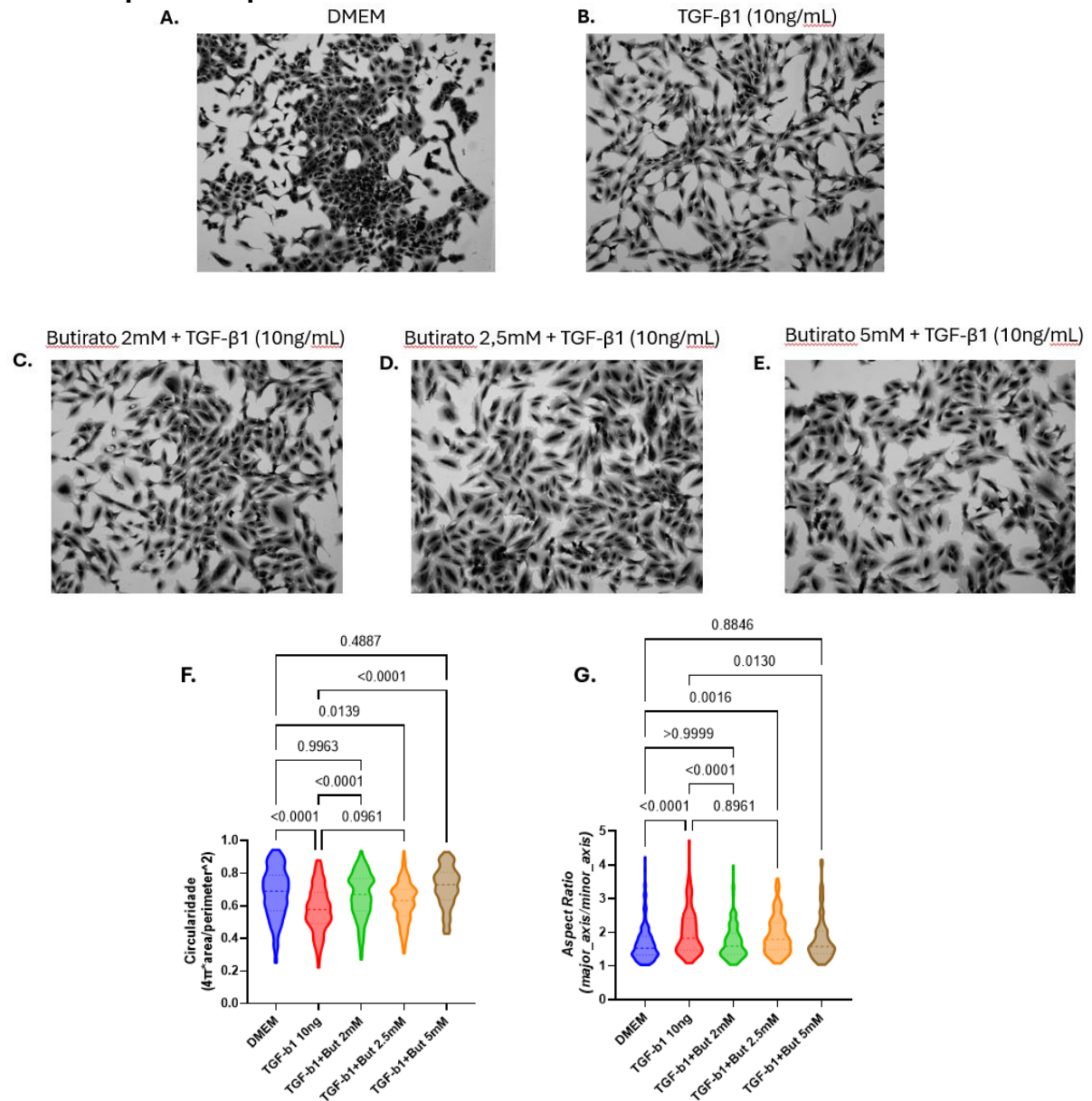


Imagens de imunofluorescência para F-actina (faloidina–Alexa Fluor 488) mostrando o grupo controle tratado apenas com DMEM (A) e o grupo estimulado com TGF- β 1 (10 ng/mL) por 48 h (B). Fonte: do Autor.

4.2 AVALIAÇÃO DO EFEITO MODULADOR DO AGCC BUTIRATO NA TEM

Para avaliar o efeito modulador do butirato, a TEM foi induzida com TGF- β 1(10ng/mL) e em seguida as células foram tratadas com o AGCC nas concentrações de 2; 2,5 e 5 mM. Foi possível observar que o butirato produziu resultados notáveis na modulação da TEM prevenindo a transição de grande parte das células para um perfil mesenquimal. Enquanto as concentrações de 2 e 2,5 mM apresentaram aumento significativo de circularidade quando comparadas ao controle positivo tratado apenas com TGF- β 1 (Figura 5C, 5D e 5B respectivamente), o tratamento com 5mM apresentou o resultado mais expressivo dentre as condições testadas (Figura 5E). Nessa condição, as células mantiveram a morfologia epitelial preservada, com formato mais circular (Figura 5F) e menor alongamento (Figura 5G) quando comparadas as outras concentrações e ao grupo controle tratado apenas com TGF- β 1.

Figura 5 – Análise morfométrica do butirato na modulação morfológica induzida por TGF- β 1 em células A549

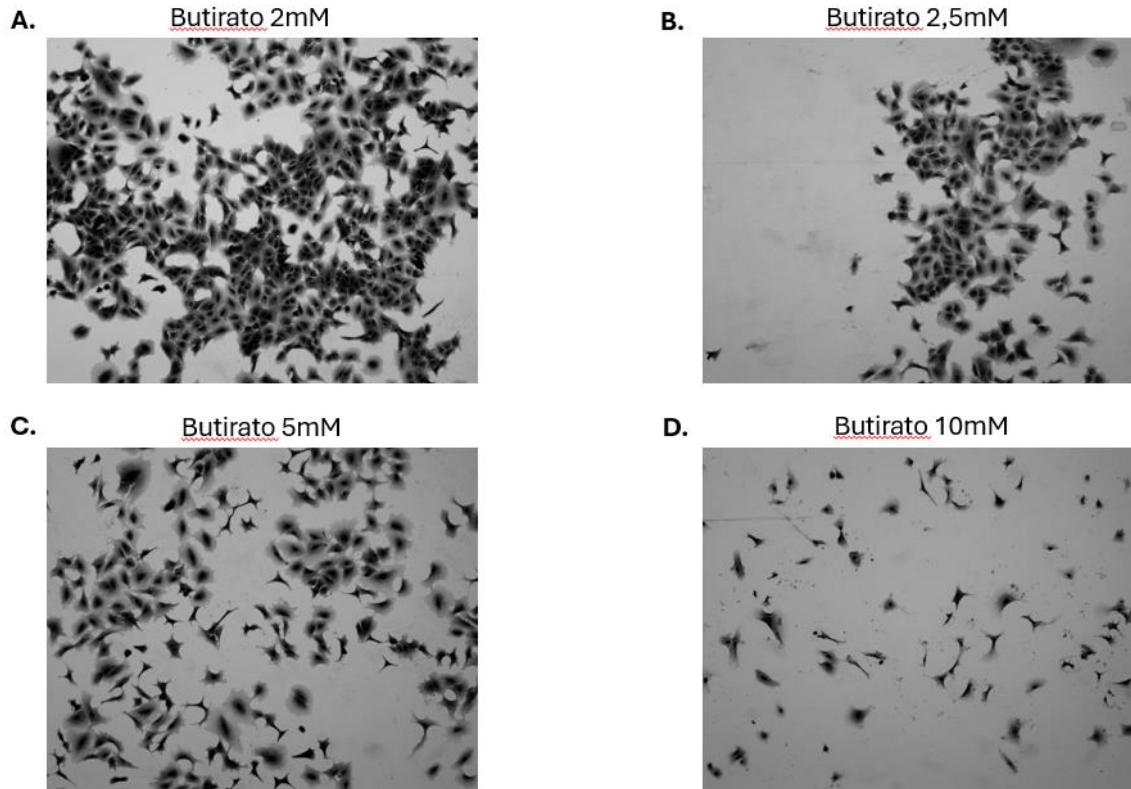


Células A549 coradas com cristal violeta. (A) grupo controle cultivado apenas em DMEM. (B) células tratadas com TGF- β 1 (10 ng/mL) por 48h. TGF- β 1 (10 ng/mL) em associação com butirato nas concentrações de 2 mM (C), 2,5 mM (D) e 5 mM (E). Análise morfométrica dos parâmetros de circularidade (F) e aspect ratio (G) obtidos a partir das imagens microscópicas. Fonte: do Autor.

Para avaliação detalhada, foram realizados todos os controles internos de estímulo, sendo avaliadas também as células tratadas somente com butirato na ausência de TEM. Neste caso, observou-se que a morfologia se manteve epitelial, apresentando contornos regulares e disposição organizada, com poucas alterações estruturais (Figura 6A, B e C respectivamente). Em contraste, na concentração de 10mM nota-se redução da densidade celular, áreas com maior espaçamento entre

as células e aspecto mais retraído, sugerindo início de estresse e morte celular em concentrações mais elevadas (Figura 6D).

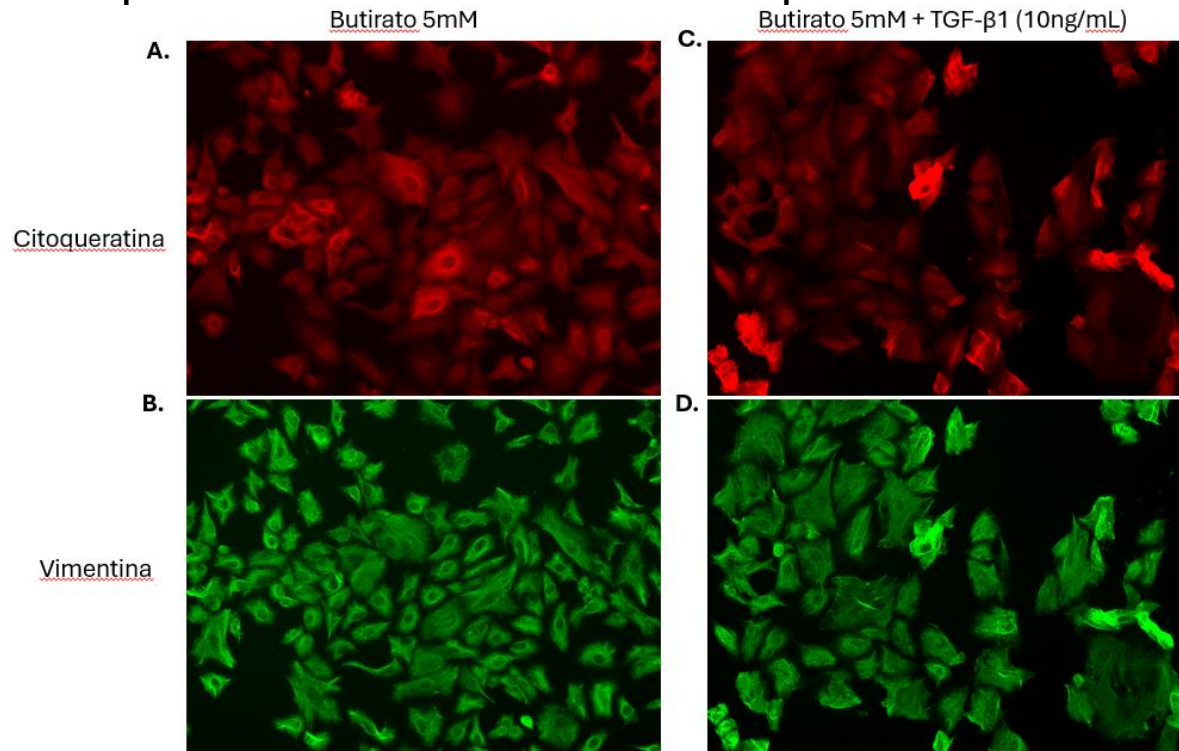
Figura 6 - Efeito de diferentes concentrações de butirato sobre a morfologia de células A549



Imagens de células A549 coradas com cristal violeta após 48 h de tratamento com butirato nas concentrações de 2 mM (A), 2.5 mM (B), 5 mM (C) e 10 mM (D). Fonte: do Autor.

Ao analisar imagens de imunofluorescência, foi possível observar, visualmente, que tanto a expressão de citoqueratina (vermelho), marcador epitelial, quanto a vimentina (verde), marcador mesenquimal, no grupo tratado com 5mM de butirato + TGF- β 1 apresentaram aspectos semelhantes ao grupo tratado sem o TGF- β 1, indicando potencial de inibição da transição epitélio mesenquimal (Figura 7). No entanto, embora esses achados sugiram que, na concentração de 5mM, o butirato possa atuar mantendo o fenótipo epitelial, contendo o estímulo pró-mesenquimal do TGF- β 1, outras análises ainda precisam ser realizadas com as marcações de células sem indução de TEM (DMEM) e com TEM induzida e sem tratamento com AGCC.

Figura 7 - Efeito do butirato (5 mM) sobre marcadores epiteliais e mesenquimais em células A549 tratadas com TGF- β 1

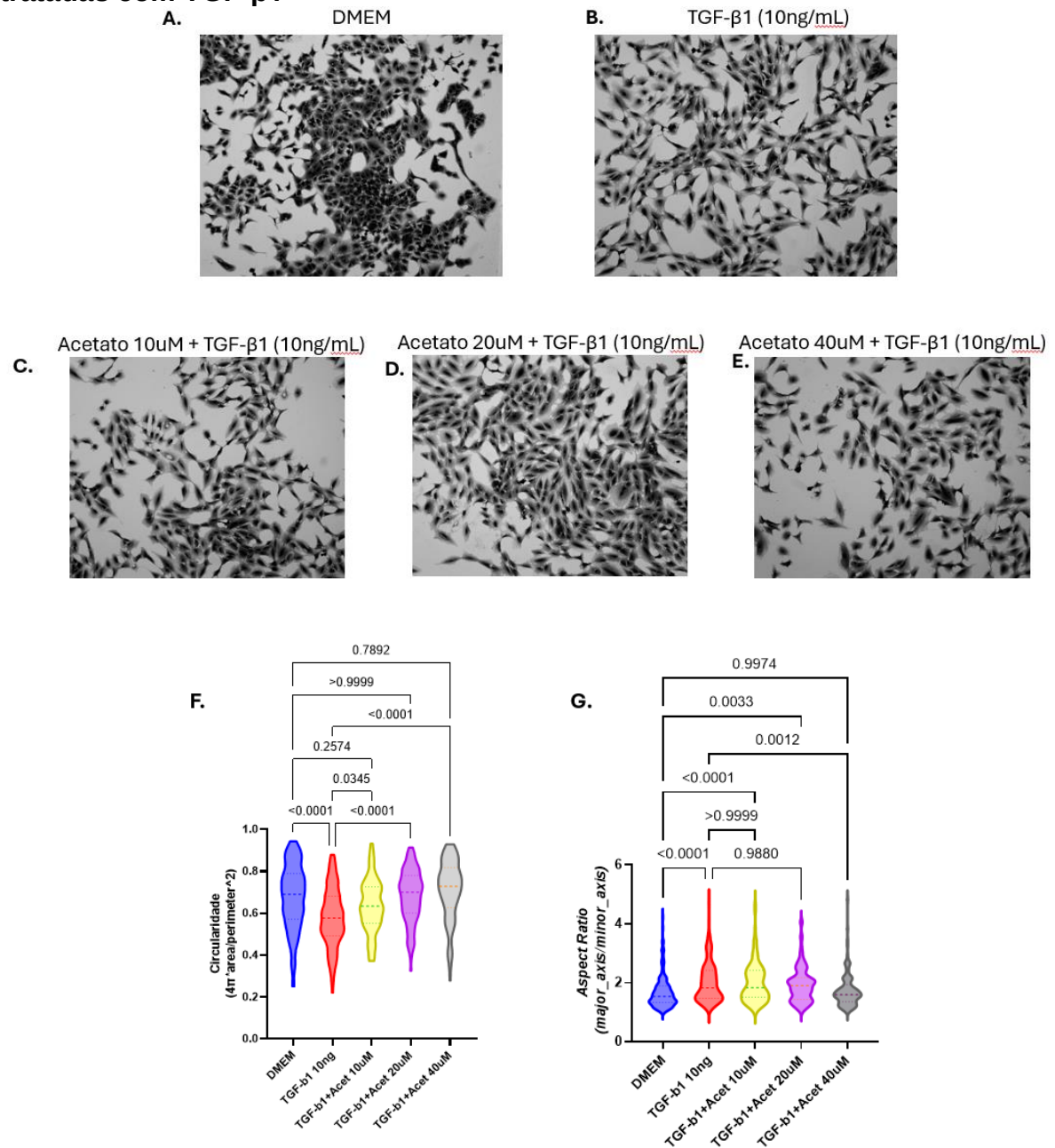


Imagens de imunofluorescência de células A549 mostrando marcação para citoqueratina (vermelho) e vimentina (verde) após 48 h de tratamento com butirato 5 mM isolado (A–B) ou combinado com TGF- β 1 (10 ng/mL) (C–D). Fonte: do Autor.

4.3 AVALIAÇÃO DO EFEITO MODULADOR DO AGCC ACETATO NA TEM

De forma análoga ao realizado para o butirato, o tratamento com acetato também foi avaliado em relação ao efeito modulador na TEM. Para tal, as células foram tratadas com acetato nas concentrações de 10, 20 e 40 μ M e, após a indução da TEM por TGF- β 1, as imagens foram analisadas (Figura 8). Desta forma, foi possível observar que, principalmente na concentração de 40 μ M (Figura 8E), houve uma modulação parcial do fenótipo mesenquimal. As células apresentaram formato menos alongado e maior circularidade quando comparadas ao grupo controle tratado apenas com TGF- β 1, sugerindo que o acetato embora de forma mais discreta, também foi capaz de atenuar as alterações morfológicas induzidas pela TEM (Figura 8F e 8G).

Figura 8 - Análise morfométrica dos efeitos do acetato em células A549 tratadas com TGF- β 1

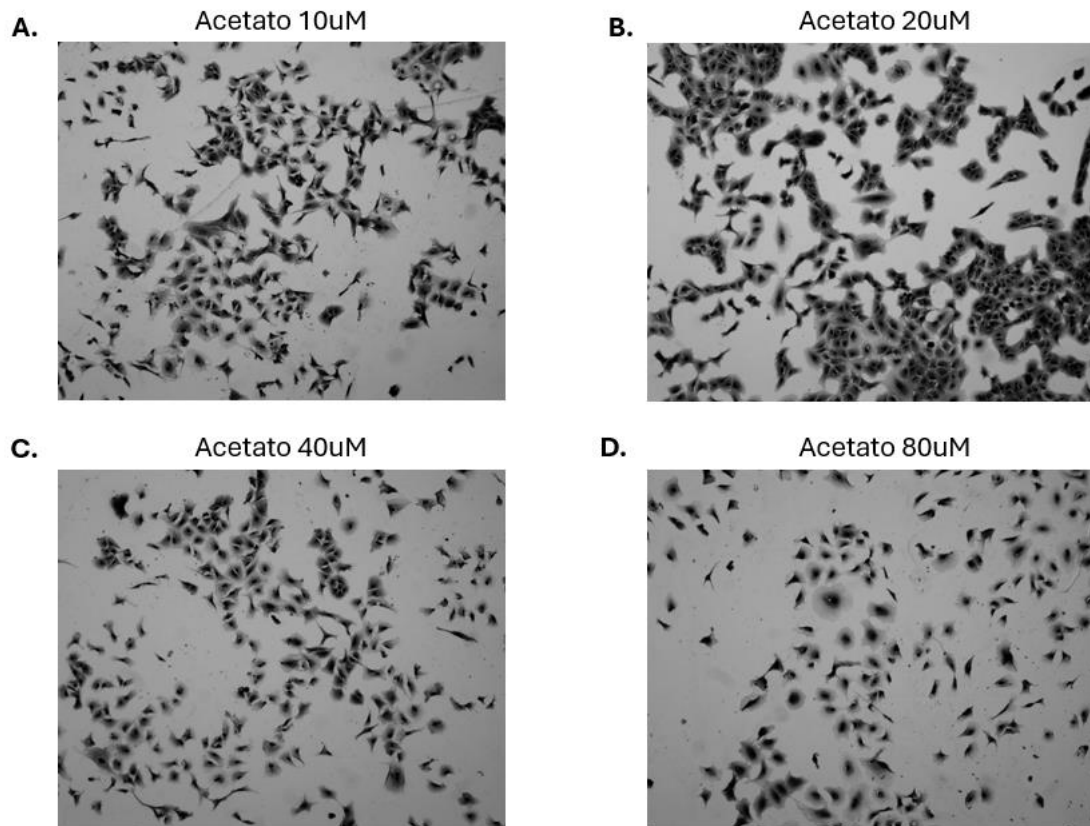


Células A549 coradas com cristal violeta. (A) grupo controle cultivado apenas em DMEM. (B) células tratadas com TGF- β 1 (10 ng/mL) por 48h. TGF- β 1 (10 ng/mL) em associação com acetato nas concentrações de 10 uM (C), 20 uM (D) e 40 uM (E). Análise morfométrica dos parâmetros de circularidade (F) e aspect ratio (G), obtidos a partir das imagens microscópicas. Fonte: do Autor.

Mais uma vez, os controles de tratamento com acetato sem a indução de TEM foram realizados, e observou-se que neste caso as células apresentam morfologia predominantemente epitelial, mantendo o formato poligonal com o citoplasma bem espalhado e o núcleo centralizado (Figura 9A, 9B e 9C respectivamente). Na concentração de 80uM, observou-se uma redução da

densidade celular com retração citoplasmática e presença de vacúolos, sugerindo estresse metabólico (Figura 9D).

Figura 9 - Efeito do acetato em diferentes concentrações sobre a morfologia de células A549

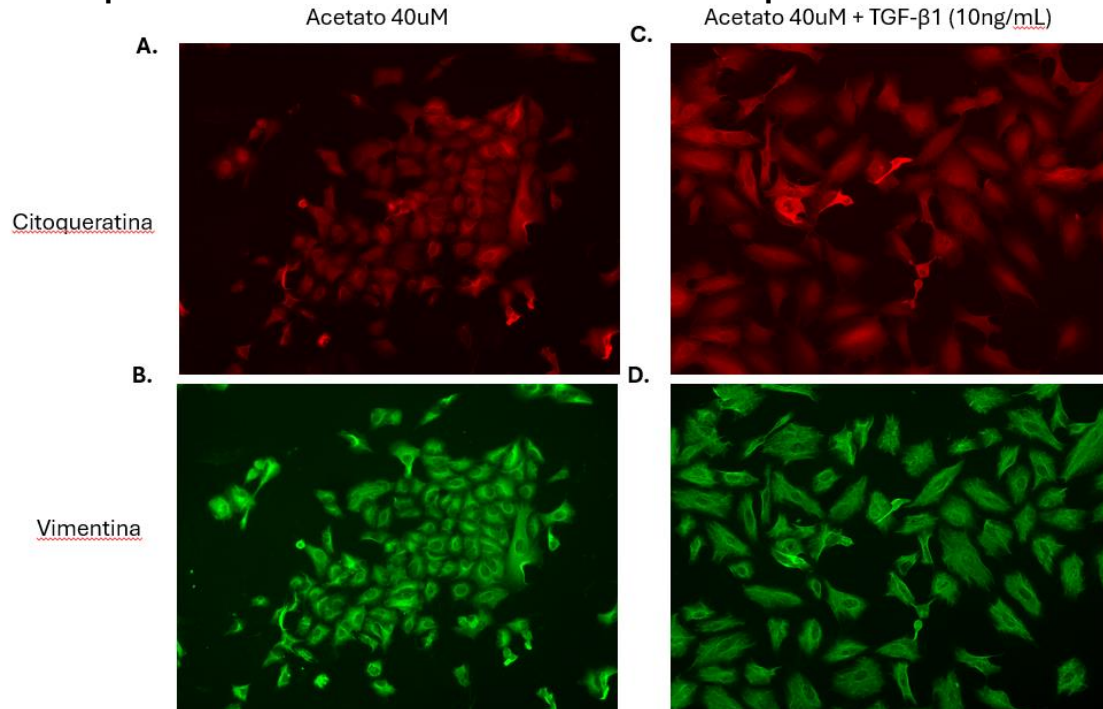


Imagens de células A549 coradas com cristal violeta após 48 h de tratamento com acetato nas concentrações de 10 uM (A), 20 uM (B), 40 uM (C) e 80 uM (D). Fonte: do Autor.

Ao analisar as imagens de imunofluorescência, observou-se que o grupo tratado com 40 uM de acetato + TGF- β 1 apresentou padrão de marcação de citoqueratina (vermelho) e vimentina (verde) muito semelhante ao grupo não estimulado com TGF- β 1, sugerindo que o acetato, nessa concentração, pode atenuar visualmente a transição epitélio-mesenquimal (Figura 10), embora não tão visível quanto o modelo com butirato. Essa semelhança na distribuição dos marcadores reforça a possibilidade de modulação da TEM também pelo acetato. Ainda que os achados apontem que o acetato, especialmente na concentração de 40 uM, possa contribuir para a manutenção de características epiteliais mesmo na presença do estímulo pró-mesenquimal do TGF- β 1, a conclusão definitiva ainda depende de comparações adicionais, incluindo a avaliação das marcações em células mantidas apenas em DMEM (sem indução de TEM) e no grupo TGF- β 1

isolado, para estabelecer os contrastes completos entre as condições com e sem estímulo e tratamento.

Figura 10 - Efeito do acetato (40uM) sobre marcadores epiteliais e mesenquimais em células A549 tratadas com TGF- β 1



Imagens de imunofluorescência de células A549 mostrando marcação para citoqueratina (vermelho) e vimentina (verde) após 48 h de tratamento com acetato 40uM isolado (A–B) ou combinado com TGF- β 1 (10 ng/mL) (C–D). Fonte: do Autor.

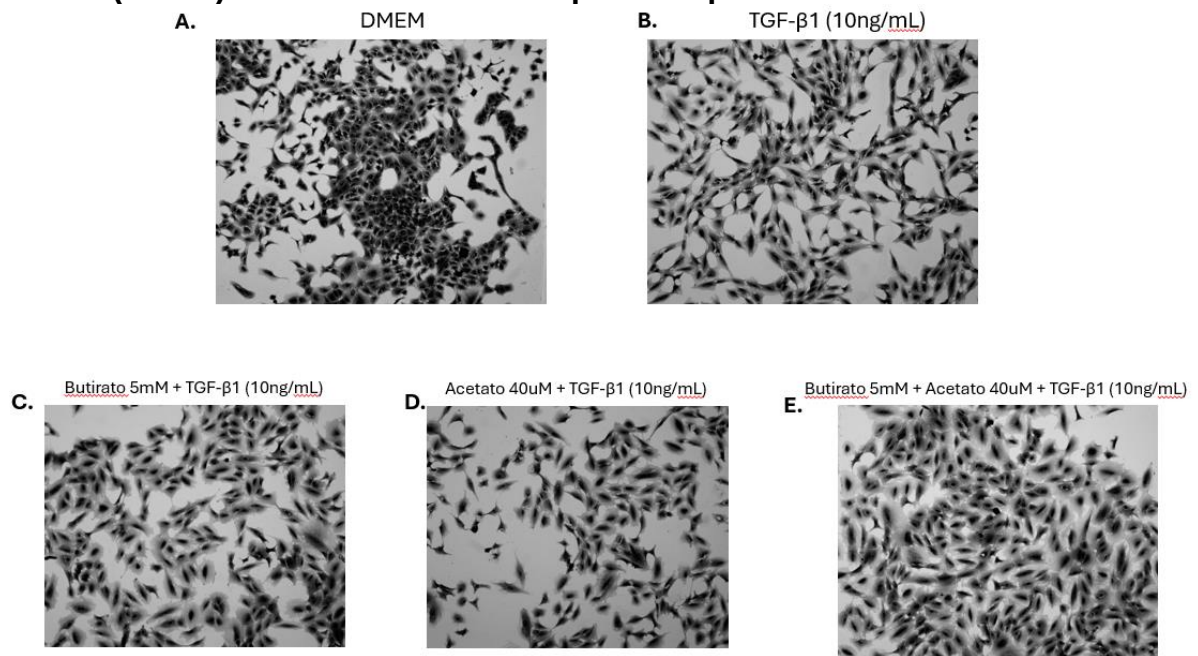
4.4 EFEITOS COMBINADOS DE BUTIRATO E ACETATO

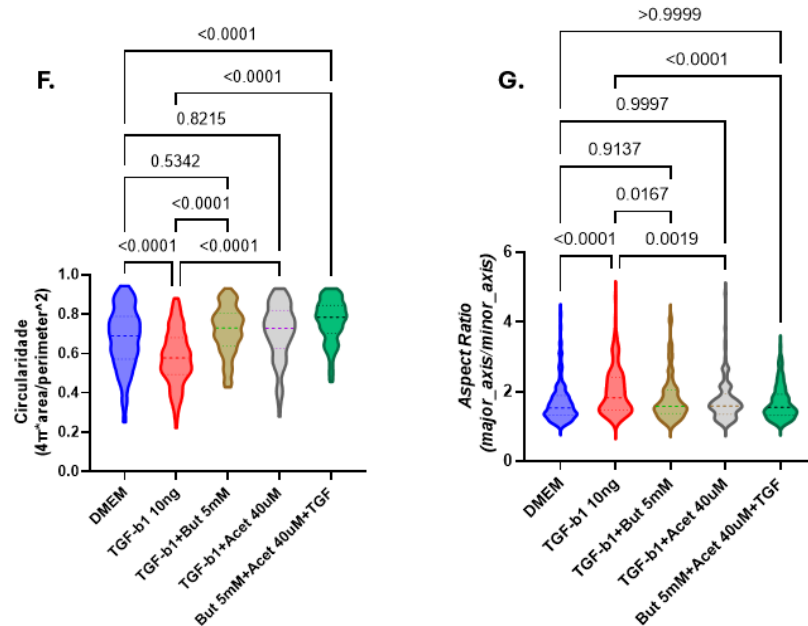
Após os tratamentos com diferentes concentrações de butirato e acetato em células induzidas a TEM, foi possível estabelecer as melhores concentrações (dentre as testadas) para seguir no estudo. Desta forma, optou-se por realizar o teste de modulação da TEM utilizando a combinação dos dois AGCC, em suas respectivas concentrações (5mM de butirato + 40uM de acetato).

Neste sentido, foi possível identificar que a combinação de butirato e acetato tem uma tendência a apresentar resultados mais expressivos do que os tratamentos isolados. As células do tratamento combinado, mesmo após a indução de TEM apresentaram morfologia mais próxima do fenótipo epitelial, com redução acentuada do alongamento, maior uniformidade no tamanho e formato celular, com núcleos arredondados e centralizados, e com o citoplasma mais difuso e bem distribuído, com bordas bem definidas e ausência de prolongamento, em relação ao controle

positivo (Figura 11). Essas características reforçam a contenção do perfil mesenquimal, e consequentemente um potencial para redução da atividade migratória induzida pelo tratamento combinado. Ao analisar a morfometria e comparar o tratamento combinado, com os individuais, podemos sugerir que embora não tenha significância estatística, as células do tratamento combinado apresentaram maior a circularidade, o que demonstra um perfil compatível com a manutenção do perfil epitelial, sugerindo que um maior n amostral e/ou o teste com outras concentrações podem futuramente mostrar resultados mais evidentes.

Figura 11 – Análise morfométrica do efeito combinado de butirato (5 mM) e acetato (40 μ M) sobre a TEM induzida por TGF- β 1 em células A549





Células A549 coradas com cristal violeta. (A) grupo controle cultivado apenas em DMEM. (B) células tratadas com TGF- β 1 (10 ng/mL) por 48h. TGF- β 1 (10 ng/mL) associado a 5 mM de butirato (C), 40 mM de acetato (D) ou à combinação de ambos os AGCC (E). Análise morfológica dos parâmetros de circularidade (F), e aspect ratio (G), obtidos a partir das imagens microscópicas. Fonte: do Autor.

5 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que butirato e acetato, dois principais ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) produzidos pela microbiota intestinal, foram capazes de modular a Transição Epitélio-Mesenquimal (TEM) induzida por TGF- β 1 em células A549 de adenocarcinoma pulmonar humano. Observou-se que o butirato na concentração de 5 mM favoreceu a manutenção da morfologia epitelial, preservação da expressão de citoqueratina e redução das fibras de estresse de actina. Por outro lado, o acetato em 40 uM apresentou efeito modulador mais sutil, embora ainda capaz de reduzir parcialmente a elongação e o rearranjo citoesquelético induzidos pelo TGF- β 1. Quando utilizados em conjunto, ambos os AGCC demonstraram um potencial sinérgico, sustentando a hipótese de que esses metabólitos podem atuar de forma complementar na regulação da TEM.

Esses resultados reforçam evidências recentes de que os AGCC atuam como moléculas sinalizadoras multifuncionais, capazes de influenciar vias envolvidas na diferenciação celular, inflamação e carcinogênese (FEITELSON et al., 2023; VERMA et al., 2024). O butirato, em particular, é amplamente conhecido por suas propriedades antiproliferativa e pró-apoptótica em diferentes tipos de câncer,

incluindo o de pulmão, por meio da inibição de histona desacetilases (HDACs) e da modulação da expressão gênica de vimentina e fibronectina, proteínas-chave no controle da adesão e plasticidade celular (LYU et al., 2022).

No contexto da TEM, o TGF- β 1 é considerado um dos principais indutores do processo, ativando vias de sinalização que resultam na repressão de marcadores epiteliais, como a citoqueratina, e à indução de marcadores mesenquimais, como a vimentina (KOH et al., 2016). Os resultados confirmam essa transição, após exposição ao TGF- β 1, as células A549 apresentaram morfologia alongada, perda de contato célula-célula e reorganização da actina em fibras de estresse, características típicas do fenótipo mesenquimal. No entanto, a presença de AGCC, especialmente do butirato, foi capaz de impedir ou reverter parcialmente essas alterações, sugerindo uma interferência nos mecanismos moleculares mediados pelo TGF- β 1.

Um dos principais mecanismos pelos quais o butirato exerce seus efeitos é a inibição das HDACs (histona desacetilases). As HDACs estão envolvidas na condensação da cromatina e na repressão transcricional de genes supressores tumorais. Ao inibi-las, o butirato promove uma abertura da cromatina, facilitando a transcrição de genes epiteliais e de diferenciação, ao mesmo tempo em que suprime genes associados à migração e invasão (FEITELSON et al., 2023; HAMER et al., 2008). Além disso, a modulação de HDACs pelo butirato pode afetar as vias ativadas pelo TGF- β 1, reduzindo sua capacidade de induzir a TEM.

O acetato, embora menos potente como inibidor de HDACs, possui forte capacidade de atuar via receptores acoplados a proteína G (GPCRs), especialmente GPR43 (FFAR2) e GPR41 (FFAR3). Esses receptores, presentes na membrana de diversas células, incluindo células epiteliais pulmonares, medeiam respostas que envolvem redução de cAMP, liberação de cálcio intracelular e ativação de RhoA, proteínas associadas à reorganização do citoesqueleto (VERMA et al., 2024; TAN et al., 2014). Essa regulação é consistente com a diminuição da elongação e reorganização da actina observada nas amostras tratadas com acetato. Assim, enquanto o butirato atua majoritariamente por mecanismos epigenéticos, o acetato age principalmente via sinalização de membrana, modulando vias de sinalização intracelular dependentes de proteína G.

A combinação de ambos os AGCC potencializaram o efeito anti-TEM, possivelmente pela integração dessas duas vias complementares: a epigenética (HDAC) e a de sinalização (GPCR). Nossos resultados reforçam essa hipótese, uma

vez que a combinação 5 mM butirato + 40 uM acetato + TGF- β 1(10ng/mL) apresentou morfologia mais epitelial, alta circularidade e menor *aspect ratio*, quando comparada aos tratamentos isolados.

Outro ponto relevante é a relação entre microbiota intestinal e pulmão, conhecida como eixo intestino–pulmão. A literatura recente aponta que alterações na microbiota intestinal, como a redução de bactérias produtoras de butirato (disbiose) estão associadas à maior suscetibilidade ao câncer de pulmão (MANOHARAN et al., 2025; GUI et al., 2020). Isso sugere que a produção intestinal de AGCC pode exercer um papel protetor sistêmico, modulando a inflamação e a diferenciação celular em órgãos distantes, inclusive no tecido pulmonar. Dessa forma, os resultados obtidos nesse estudo em modelo in vitro reforçam a hipótese de que os AGCC atuam como mediadores metabólicos do eixo intestino-pulmão, capazes de influenciar o comportamento de células epiteliais pulmonares mesmo a distância do local de origem.

A modulação positiva observada neste estudo pode estar associada à capacidade dos AGCC de promover homeostase imunológica. Estudos apontam que esses metabólitos estimulam a diferenciação de linfócitos T reguladores (Tregs) e reduzem a produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e TNF- α , as quais também participam da indução da TEM (ARPAIA et al., 2013; ATARASHI et al., 2011). Assim, o efeito observado nas células A549 pode refletir, em nível molecular, o equilíbrio anti-inflamatório e regulador promovido por essas moléculas.

O fato de o butirato ser mais efetivo que o acetato também pode ser explicado por sua maior afinidade como inibidor natural de HDAC e sua capacidade de penetrar com mais facilidade nas células através dos transportadores MCT1 e SMCT1. Essa característica possibilita que o butirato atue não apenas na membrana, mas também no núcleo, alterando diretamente a expressão gênica. Já o acetato, embora amplamente absorvido, possui menor potência epigenética, dependendo mais da ativação de receptores de superfície (TAN et al., 2014). Essa diferença pode justificar porque o butirato, mesmo em concentrações mais baixas, apresentou maior capacidade de “segurar” a TEM, enquanto o acetato exigiu doses mais altas para atingir efeito semelhante.

Os resultados morfométricos obtidos com o *ImageJ* corroboram os achados morfológicos observados por microscopia de fluorescência. O aumento da circularidade acompanhado pela redução do *aspect ratio*, indicam uma reversão do

fenótipo mesenquimal para o epitelial, confirmando que o butirato na concentração de 5 mM foi eficaz em impedir a progressão da TEM.

Em resumo, este estudo reforça o potencial dos AGCC como moduladores epigenéticos e sinalizadores celulares, capazes de influenciar processos críticos para a progressão tumoral, como a transição epitélio-mesenquimal. A ação combinada de butirato e acetato pode representar uma estratégia promissora para a modulação de plasticidade celular e metástase, especialmente em tumores epiteliais como o adenocarcinoma pulmonar.

Dessa forma, compreender os mecanismos pelos quais esses metabólitos microbianos interferem na TEM pode abrir novas perspectivas terapêuticas que explorem o eixo microbiota–metabólitos–pulmão, integrando intervenções dietéticas, probióticas e farmacológicas voltadas a regulação da diferenciação celular e a inibição da progressão tumoral.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo mostraram que os ácidos graxos de cadeia curta, em especial o butirato, tem potencial de interferir de forma significativa na morfologia induzida pelo TGF- β 1 e favorecer a manutenção de características epiteliais na linhagem A549. Embora o acetato tenha apresentado efeito mais discreto, sua atuação em concentrações intermediárias demonstrou que diferentes AGCC podem modular o fenótipo celular de maneira dependente de dose, e que a combinação entre eles tende a potencializar essa resposta. Esses achados, ainda que iniciais, reforçam que metabólitos derivados da microbiota intestinal não apenas têm impacto local no intestino, mas também podem direcionar comportamentos celulares em tecidos distantes, como o pulmão, influenciando plasticidade, migração e mecanismos associados a progressão tumoral.

Dessa forma, o uso de AGCC isolados ou combinados, aplicados de maneira controlada, pode representar uma via alternativa promissora para limitar características associadas a transição epitélio-mesenquimal no câncer de pulmão. Ao evidenciar que essas moléculas podem, ao menos parcialmente, contrabalancear estímulos pró-mesenquimais, este trabalho amplia a perspectiva de que intervenções direcionadas ao metabolismo microbiano, seja por modulação exógena, suplementação ou estratégias dietéticas, possam, no futuro, integrar

abordagens complementares a terapias antitumorais estabelecidas, agregando potencial maior de controle de progressão e redução de agressividade tumoral.

REFERÊNCIAS

ARPAIA, N. et al. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. **Nature**, v. 504, n. 7480, p. 451–455, 2013.

ATARASHI, K. et al. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. **Science (New York, N.Y.)**, v. 331, n. 6015, p. 337–341, 2011.

CANANI, R. B. Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases. **World journal of gastroenterology: WJG**, v. 17, n. 12, p. 1519, 2011.

CARVALHO LEÃO, M. H.; COSTA, M. L.; MERMELSTEIN, C. Epithelial-to-mesenchymal transition as a learning paradigm of cell biology. **Cell biology international**, v. 47, n. 2, p. 352–366, 2023.

CORRÊA, Renan Oliveira *et al.* Butyrate: Connecting the gut-lung axis to the management of pulmonary disorders. **Frontiers in nutrition**, v. 9, p. 1011732, 2022.

DATTA, A. Cytoskeletal Dynamics in Epithelial-Mesenchymal Transition: Insights into Therapeutic Targets for Cancer Metastasis. **Cancers**, v. 13. [s.l: s.n.].

DONGRE, A.; WEINBERG, R. A. New insights into the mechanisms of epithelial mesenchymal transition and implications for cancer. **Nature reviews. Molecular cell biology**, v. 20, n. 2, p. 69–84, 2019.

DURHAM, A. L. Non-small cell lung cancer: Molecular profiles, targeted therapy, and immunotherapy. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 16, n. 12, p. 747–762, 2019.

FEITELSON, Mark A. *et al.* Short-chain fatty acids in cancer pathogenesis. **Cancer metastasis reviews**, v. 42, n. 3, p. 677–698, 2023.

FIDLER, Isaiah J. The pathogenesis of cancer metastasis: the “seed and soil” hypothesis revisited. **Nature reviews. Cancer**, v. 3, n. 6, p. 453–458, 2003.

Global Cancer Observatory: Cancer Today. In: **GLOBOCAN 2020**. [s.l: s.n.].

GUI, Qifeng *et al.* The association between gut butyrate-producing bacteria and non-small-cell lung cancer. **Journal of clinical laboratory analysis**, v. 34, n. 8, p. e23318, 2020.

HAMER, H. M. *et al.* Review article: the role of butyrate on colonic function: REVIEW: ROLE OF BUTYRATE ON COLONIC FUNCTION. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v. 27, n. 2, p. 104–119, 2008.

HEIGENER, D. F. *Patterns of metastasis in lung cancer. Oncology Research and Treatment*, 43(6):321–326, 2020.

HIRSCH, Fred R. *et al.* Lung cancer: current therapies and new targeted treatments. **Lancet**, v. 389, n. 10066, p. 299–311, 2017.

HOWLADER, N. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2016. **SEER Cancer Statistics Review**, 1975.

JOLLY, M. K. *et al.* 519 Epithelial-mesenchymal transition, a spectrum of states: Role in lung development, 520 homeostasis, and disease. **Developmental Dynamics**, v. 247, n. 3, p. 346–358, 2018.

KALLURI, R.; WEINBERG, R. A. The basics of epithelial-mesenchymal transition. **The journal of clinical investigation**, v. 119, n. 6, p. 1420–1428, 2009.

KOH, A. *et al.* From dietary fiber to host physiology: Short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. **Cell**, v. 165, n. 6, p. 1332–1345, 2016.

KIM, So Yeon; PARK, Henry S.; CHIANG, Anne C. Small cell lung cancer: A review: A review. **JAMA: the journal of the American Medical Association**, v. 333, n. 21, p. 1906–1917, 2025.

KREBS, A. M. et al. The EMT-activator Zeb1 is a key factor for cell plasticity and promotes metastasis in pancreatic cancer. **Nature cell biology**, v. 19, n. 5, p. 518–529, 2017.

KUBURICH, Nick A. et al. Proactive and reactive roles of TGF- β in cancer. **Seminars in cancer biology**, v. 95, p. 120–139, 2023.

LEE, J. M. et al. The epithelial-mesenchymal transition: new insights in signaling, development, and disease. **The journal of cell biology**, v. 172, n. 7, p. 973–981, 2006.

LI, Yuanqing et al. The roles and applications of short-chain fatty acids derived from microbial fermentation of dietary fibers in human cancer. **Frontiers in nutrition**, v. 10, p. 1243390, 2023.

LIAO, T.-T.; YANG, M.-H. Revisiting epithelial-mesenchymal transition in cancer metastasis: the connection between epithelial plasticity and stemness. **Molecular oncology**, v. 11, n. 7, p. 792–804, 2017.

LIM, J.; THIERY, J. P. Epithelial-mesenchymal transitions: insights from development. **Development (Cambridge, England)**, v. 139, n. 19, p. 3471–3486, 2012.

LOH, C. Y. The E-Cadherin and N-Cadherin Switch in Epithelial-to-Mesenchymal Transition: Signaling, Therapeutic Implications, and Challenges. **Cells**. [s.l: s.n.].

LYU, J. et al. The short-chain fatty acid acetate modulates epithelial-to-mesenchymal transition. **Molecular biology of the cell**, v. 33, n. 8, p. br13, 2022.

MANOHARAN, Sharanya *et al.* Gut-lung axis microbiome: Towards precision medicine in respiratory disorders (Review). **World Academy of Sciences journal**, v. 7, n. 5, p. 1–15, 2025.

MASSAGUÉ, J. TGFbeta in cancer. **Cell**, v. 134, n. 2, p. 215–230, 2008.

MCALLISTER, S. S.; WEINBERG, R. A. Tumor-host interactions: a far reaching relationship. **J Clin Oncol**, v. 26, p. 4022–4028, 2010.

MRKVICOVA, A. *et al.* The effect of sodium butyrate and cisplatin on expression of EMT markers. **PloS one**, v. 14, n. 1, p. e0210889, 2019.

NALLURI, S. M.; O'CONNOR, J. W.; GOMEZ, E. W. Cytoskeletal signaling in TGFβ-induced epithelial-mesenchymal transition: Cytoskeletal Signaling in TGFβ-Induced EMT. **Cytoskeleton (Hoboken, N.J.)**, v. 72, n. 11, p. 557–569, 2015.

PAGET, S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. 1889. **Cancer metastasis reviews**, v. 8, n. 2, p. 98–101, 1989.

PARK, Bi-Oh *et al.* The short-chain fatty acid receptor GPR43 modulates YAP/TAZ via RhoA. **Molecules and cells**, v. 44, n. 7, p. 458–467, 2021.

PEREIRA, L. F. F. *et al.* Lung cancer screening in Brazil: recommendations from the Brazilian Society of Thoracic Surgery, Brazilian Thoracic Association, and Brazilian College of Radiology and Diagnostic Imaging. **Jornal brasileiro de pneumologia: publicacao oficial da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisilogia**, v. 50, n. 1, p. e20230233, 2024.

POSTE, G.; FIDLER, I. J. The pathogenesis of cancer metastasis. **Nature**, v. 283, n. 5743, p. 139–146, 1980.

PSAILA, B.; LYDEN, D. The metastatic niche: adapting the foreign soil. **Nature reviews. Cancer**, v. 9, n. 4, p. 285–293, 2009.

PULFORD, C. S. et al. A hybrid epithelial to mesenchymal transition in ex vivo cutaneous squamous cell carcinoma tissues. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 16, p. 9183, 2022.

SHOU, M.; ZHOU, H.; MA, L. New advances in cancer therapy targeting TGF- β signaling pathways. **Molecular therapy oncolytics**, v. 31, p. 100755, 2023.

SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D.; JEMAL, A. Cancer statistics, 2020. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 70, n. 1, p. 7–30, 2020.

TAN, J. et al. The role of short-chain fatty acids in health and disease. **Advances in immunology**, v. 121, p. 91–119, 2014.

TLSTY, T. D.; COUSSENS, L. M. Tumor stroma and regulation of cancer development. **Annual review of pathology**, v. 1, n. 1, p. 119–150, 2006.

TRAVIS, William D. et al. The 2015 world health organization classification of lung tumors. **Journal of thoracic oncology: official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer**, v. 10, n. 9, p. 1243–1260, 2015.

VENEGAS, D. Short Chain Fatty Acids (SCFAs)-Mediated Gut Epithelial and Immune Regulation and Its Relevance for Inflammatory Bowel Diseases. **Frontiers in Immunology**, v. 10, 2019.

VERMA, Anjali et al. Short-chain fatty acid (SCFA) as a connecting link between Microbiota and gut-lung axis-A potential therapeutic intervention to improve lung health. **ACS omega**, v. 9, n. 13, p. 14648–14671, 2024.

YANG, J. et al. Guidelines and definitions for research on epithelial-mesenchymal transition. **Nature reviews. Molecular cell biology**, v. 21, n. 6, p. 341–352, 2020.

YEUNG, K. T.; YANG, J. Epithelial-mesenchymal transition in tumor metastasis. **Molecular oncology**, v. 11, n. 1, p. 28–39, 2017.

ZEISBERG, M.; NEILSON, E. G. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. **The journal of clinical investigation**, v. 119, n. 6, p. 1429–1437, 2009.

ZHANG, K. et al. Clostridium butyricum inhibits epithelial-mesenchymal transition of intestinal carcinogenesis through downregulating METTL3. **Cancer science**, v. 114, n. 8, p. 3114–3127, 2023.