

AVALIAÇÃO DO PAPEL DA AUTOFAGIA NA PROGRESSÃO E RESPOSTA TERAPÊUTICA DO CARCINOMA EPIDERMOIDE DE ESÔFAGO

Gleicy Sotéro Roberto¹

Resumo

O câncer de esôfago (CE) representa o oitavo tumor mais incidente e o sexto mais mortal dentre todos os tumores malignos no mundo. O carcinoma epidermoide de esôfago (CEE) representa 90% dos casos de CE. A alta letalidade do CEE é consequência, principalmente, do diagnóstico tardio desses tumores. O entendimento dos mecanismos envolvidos na desregulação dos processos celulares e moleculares envolvidos com o desenvolvimento desse tumor pode levar à identificação de vias alteradas, revelando potenciais novos alvos terapêuticos. Nesse contexto, a autofagia surge como um interessante alvo de estudo para o CEE, devido aos estresses advindos do microambiente tumoral serem fundamentais para a progressão tumoral e compreenderem a privação de nutrientes, hipóxia, desprendimento da matriz extracelular, dentre outros, que são capazes de disparar a autofagia. Estudos observaram uma associação entre a autofagia, resposta ao tratamento e, conseqüentemente, prognóstico dos pacientes. Dessa forma, moléculas envolvidas com a autofagia vêm sendo propostas como biomarcadores de prognóstico e/ou resposta terapêutica, e esse processo vem sendo alçado como um promissor alvo terapêutico. Nesse sentido, devido aos poucos estudos sobre o papel da autofagia na terapêutica do CEE, esse se tornou o foco deste presente trabalho.

Palavras-chave: Autofagia. Carcinoma epidermoide de esôfago. Resposta terapêutica.

¹Graduada em Biomedicina pelo UGB/FERP. Aluna de Iniciação Científica do Instituto Nacional de Câncer (INCA) – Programa de Carcinogênese Molecular (PCM).

EVALUATION OF THE ROLE OF AUTOPHAGY IN PROGRESSION AND THERAPEUTIC RESPONSE OF EPIDERMOID ESOPHAGEAL CARCINOMA

Abstract

Esophageal cancer (EC) represents the eighth most incident tumor and the sixth most deadly of all malignant tumors worldwide. Esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) represents 90% of cases of EC. The high lethality of ESCC is a consequence, mainly, of the late diagnosis of these tumors. Understanding the mechanisms involved in the deregulation of the cellular and molecular processes involved in the development of this tumor can lead to the identification of altered pathways, revealing potential new therapeutic targets. In this context, autophagy appears as an interesting study target for ESCC, due to the stresses arising from the tumor microenvironment being fundamental for tumor progression and understanding the deprivation of nutrients, hypoxia, detachment of the extracellular matrix, among others, which are capable of trigger autophagy. Studies have observed an association between autophagy, response to treatment and, consequently, patients' prognosis. Thus, molecules involved in autophagy have been proposed as biomarkers of prognosis and/or therapeutic response, and this process has been raised as a promising therapeutic target. In this sense, due to the few studies on the role of autophagy in the treatment of ESCC, this has become the focus of this present work.

Keywords: Autophagy. Esophageal squamous cell carcinoma. Therapeutic response.

Introdução

O câncer de esôfago (CE) representa o oitavo tipo de tumor mais incidente e o sexto mais mortal dentre todos os tumores malignos no mundo. A proximidade entre as taxas de incidência e mortalidade do câncer caracteriza esse tumor como sendo altamente letal, o que reflete na sobrevida em 5 anos estimada para menos de 20% dos pacientes (BRAY *et al.*, 2018). Existem dois subtipos histológicos principais de CE: o carcinoma epidermoide de esôfago (CEE) e o adenocarcinoma (ADE). Dentre eles, o CEE é o mais comum, correspondendo a aproximadamente 90% dos casos de CE (ABNET *et al.*, 2018).

A alta letalidade do CEE é devida, fundamentalmente, ao frequente diagnóstico tardio desses tumores, que ocorre quando as estratégias terapêuticas já não são eficazes, o que acarreta um pior prognóstico para os pacientes acometidos por essa neoplasia. O diagnóstico precoce do CEE é raro, devido ao fato desse tumor ser assintomático e os primeiros sintomas clínicos percebidos quando a doença já em estágios mais avançados (COSTA *et al.*, 2013). Atualmente, o protocolo mais comumente empregado para o tratamento de pacientes com CEE consiste em quimio-radioterapia neoadjuvante à cirurgia (VAN HAGEN *et al.*, 2012). Embora esse protocolo tenha conferido um significativo ganho para a sobrevivência dos pacientes com CEE, apenas 29% dos pacientes atingem reposta patológica completa (VAN HAGEN *et al.*, 2012), o que demonstra que o prognóstico para esse tumor continua sombrio. Devido a isso, o conhecimento dos mecanismos moleculares e celulares relacionados à gênese e progressão dessa neoplasia é de suma importância para que se possa desenvolver terapêuticas mais eficazes que diminuam a alta letalidade e o péssimo prognóstico desse tipo de tumor

Nesse sentido, a autofagia chama a atenção como um interessante alvo de estudo para o CEE, uma vez que existe uma associação entre autofagia e resposta terapêutica ao tratamento quimioterápico já relatada para alguns tumores. A autofagia é um processo celular fisiológico importante, entretanto, seu desbalanço está associado a diversas patologias, incluindo o câncer (XU; XIA; PAN, 2013; WU *et al.*, 1998).

No câncer, os estresses advindos do microambiente tumoral desempenham um papel fundamental na progressão tumoral e compreendem a privação de nutrientes, hipóxia, estresse genotóxico, desprendimento da matriz extracelular (DALBY *et al.*, 2010), entre outros, que são capazes de disparar a autofagia. A autofagia é uma via de sobrevivência que permite, inicialmente, que as células tumorais sobrevivam sob condições estressantes (MIZUSHIMA, 2018; SCHERZ-SHOVAL *et al.*, 2010; KONDO *et al.*, 2005). Assim, a autofagia parece representar um mecanismo protetor nas fases iniciais da tumorigênese, quando altos níveis de síntese proteica, ao invés de degradação, são requeridos para o crescimento tumoral (SINGH *et al.*, 2017).

Entretanto, tumores já estabelecidos se beneficiam da autofagia para sua sobrevivência em resposta ao estresse celular causado pela escassez de nutrientes, hipóxia, tratamentos genotóxicos (SINGH *et al.*, 2017), aumentando a invasividade e o potencial metastático (WANG; CHEN, 2013).

Sendo assim, existe uma relação entre a autofagia, resposta ao tratamento e, conseqüentemente, prognóstico dos pacientes. Dessa forma, moléculas envolvidas com o processo autofágico vêm sendo propostas como biomarcadores de prognóstico e/ou resposta terapêutica para diferentes tumores (CHEN *et al.*, 2013; O'DONOVAN *et al.*, 2011). A autofagia em CEE tem papel importante na resistência à terapia, células resistentes à quimioterapia ativam a autofagia, o que as capacita a se recuperar após o tratamento, em contraste com as células sensíveis. Esses resultados sugerem que a resposta autofágica seja um mecanismo de sobrevivência que promove a quimiorresistência e recuperação das células resistentes (HALL *et al.*, 2018).

Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo geral apresentar uma investigação sobre a autofagia e seu impacto na resposta terapêutica e na progressão do CEE. E como objetivos específicos revisar a literatura acerca do tema, apresentar o histórico do CEE, discorrer sobre a autofagia e discutir sobre resposta terapêutica.

Metodologia

Para a realização deste trabalho adotou-se a revisão bibliográfica da literatura quantitativa e qualitativa de caráter exploratório/ explicativo sobre o CEE, a autofagia e resposta terapêutica. A revisão da bibliográfica ocorreu por meio do acesso online de produções científicas da plataforma PubMed que é mantida pela NCBI (*"National Center for Biotechnology Information"*, 2020).

Na ocasião, foram empregados os seguintes critérios de inclusão dos artigos definidos: artigos disponíveis eletronicamente publicados entre os anos de 1993 a 2020; artigos disponíveis no idioma português, inglês e espanhol com os temas CEE,

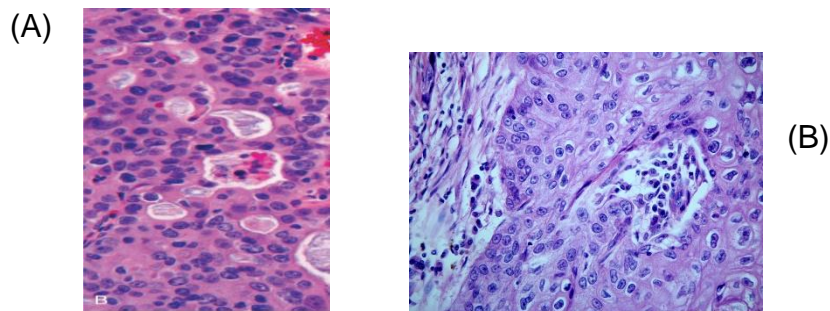
autofagia e autofagia no CEE. Foram excluídos durante a busca: toda produção duplicada, editoriais, cartas ao editor, bem como estudos que não abordem temática relevante ao alcance do objetivo do estudo. Foram encontrados em sua totalidade 170.541 publicações sobre CEE, 53.239 sobre autofagia e 512 resultados sobre autofagia no CEE na plataforma PubMed.

Histórico do CEE

O CE figura na oitava posição entre todos os tipos de cânceres com maior incidência no mundo, sendo o sexto mais mortal entre os tumores malignos (BRAY *et al.*, 2018). No Brasil, tal neoplasia é a sexta mais incidente em homens e a décima quinta em mulheres, com uma estimativa para o ano 2020-2022 de 8.690 novos casos para homens e 2.700 para mulheres (INCA, 2020).

Existem dois tipos histológicos principais de câncer esofágico, quais sejam: o carcinoma epidermoide (Figura 01A) e o adenocarcinoma (figura 01B). O CEE representa 90% dos casos de CE (LAGERGREN; LAGERGREN, 2010), e é o foco desse estudo. Nesse contexto, o conhecimento sobre essa neoplasia, preconiza um conhecimento mais abrangente sobre os desafios que essa enfermidade tem gerado no mundo.

Figura 1. Tipos histológicos de câncer de esôfago.



Fonte: ROBBINS; COTRAN, 2010; Graduação
(Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina – UFRJ)

Uma das mais antigas menções sobre o CE ocorreu no Egito, há aproximadamente 3.000 A.C. Foi descoberto por Edwin Smith em 1862, onde ele descreve os estágios da doença, a anatomia, fisiologia, patologia e as observações clínicas, porém, sem declarar o câncer, intitulado como: “*A Gaping Wound of the Throat Penetrating the Gullet*”, traduzindo para o português: “Uma ferida aberta na garganta que penetra o esôfago”. Desde então, novos casos e registros foram expostos no mundo todo (ESLICK, 2009).

Epidemiologia do CEE

O CEE é proveniente do epitélio pavimentoso estratificado não queratinizado, apresentado na mucosa normal do esôfago. Na China, ocorre mais de 50% dos casos desse tipo histológico, seguido da Índia, sudeste da Ásia e Ásia Central, com 25% dos casos. Com base nos dados epidemiológicos, pode-se considerar o CEE uma doença que se destaca principalmente em regiões em desenvolvimento socioeconômico, tendo como principais fatores de risco o alto consumo de tabaco e álcool, que quando associados aumentam significativamente as chances de obtenção de CE (STEWART, W. B.; WILD, P. C., 2014).

Ademais, há outros fatores de risco, tais como: alimentação pobre em vitaminas, presença de ar poluído, ingestão de substâncias cáusticas, acalasia, tilose, alta ingestão de carne processada e vegetais em conserva, consumo de bebidas quentes, má higiene bucal e o uso de ópio (XIE; LAGERGREN, 2018). A região sul do Brasil, principalmente o Rio Grande do Sul, possui a maior prevalência de CE, devido à alta prática do consumo de chimarrão, que aumenta de 2,5 a 5 vezes o número de casos em relação a outros Estados do país (CASTELLSAGUE *et al.*, 2000; ISLAMI *et al.*, 2009; LUBIN *et al.*, 2013).

Conhecer os fatores de risco da doença e poder precaver-se à exposição é a melhor maneira para evitar o surgimento da enfermidade. A prevenção do CE ocorre através da melhoria de hábitos de vida, por meio de uma alimentação rica em

nutrientes, não fumar nem se expor à fumaça, evitar o consumo de bebidas alcoólicas, diminuir o consumo de bebidas muito quentes (acima de 60°C) ou esperar que diminua a temperatura para o consumo (CALVET, 2015; HEATH *et al.*, 2000; CHAINANI *et al.*, 2002).

No Brasil, o Ministério da Saúde elaborou, por meio do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), o Programa Nacional de Controle ao Tabagismo (PNCT), que tem como intuito reduzir o número de fumantes ativos, tendo como efeito a diminuição do número de doenças relacionadas ao tabagismo através de ações educativas, de comunicação e de atenção à saúde, associados à adoção ou cumprimento de medidas legislativas e econômicas (“Programa Nacional de Controle do Tabagismo | INCA - Instituto Nacional de Câncer”, 2020).

Sintomas do CEE

O CEE é uma neoplasia em que dificilmente o portador possui sintomas nos seus primeiros estágios da enfermidade, sendo por isso considerada uma doença com alta letalidade advinda de um diagnóstico tardio. Com a evolução da doença, surgem alguns sintomas como a odinofagia, dor retroesternal, dor no tórax, falta de apetite, náusea, sensação de entupimento da via de alimentação, vômito e disfagia. A disfagia é um dos principais sintomas de tumor maligno no esôfago, que infelizmente só se manifesta em estágios mais avançados, onde o prognóstico do paciente é ruim (LAGERGREN; LAGERGREN, 2010). Nesse contexto, o tratamento do paciente costuma resultar em uma sobrevida aproximada de 5 anos para somente 10% dos casos (CRADDOCK, 1993). Lamentavelmente, a doença acaba se disseminando, ocasionando o falecimento da maioria dos pacientes.

Diagnóstico precoce e rastreamento do CEE

É raro ocorrer o diagnóstico precoce da doença, por isso o mapeamento de biomarcadores capazes de identificar a patologia em seus estados mais precoces se faz extremamente necessário para um melhor prognóstico do paciente (DA COSTA *et al.*, 2013). No Brasil, técnicas de rastreamento não ocorrem para o CE, um dos fatores que leva a uma alta letalidade da doença (ARANTES *et al.*, 2012). Entretanto, em países como a China, onde a incidência da neoplasia é grande, o exame endoscópico é utilizado como uma estratégia na detecção precoce e na redução efetiva da mortalidade advinda da doença (ZHENG *et al.*, 2015).

Estadiamento e tratamento do CEE

Caso o paciente possua a suspeita de CE, o médico irá indicar, para fins de diagnóstico, a endoscopia digestiva alta, que possibilitará a análise da biópsia para confirmação anatomopatológica e para definição do subtipo histológico (DI PIETRO; CANTO; FITZGERALD, 2018).

Após o diagnóstico probatório do CE, é necessário que seja realizado o diagnóstico por imagem para que possa ser avaliado o grau de disseminação da neoplasia, sendo necessário estadiar o tumor (DOLL, 1999). O estadiamento é aplicado para os dois subtipos histológicos de CE com poucas variações, entretanto o CEE (figura 02) será o foco por ser o alvo deste estudo.

Para tanto o estadiamento TNM desenvolvido entre 1943 e 1952 por Pierre Denoix, na França, sendo mantido pelo *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) e pelo *The International Union Against Cancer* (UICC), consiste na avaliação de três componentes (DOLL, 1999):

- T - Expansão da neoplasia no tumor primário;

- N - Ausência ou presença de linfonodos regionais;
- M - Ausência ou presença de metástases à distância.
-

Figura 2. Estadiamento do carcinoma epidermoide de esôfago

<i>Squamous Cell Carcinoma*</i>			
Stage	T	N	M
0	Tis (HGD)	N0	M0
IA	T1	N0	M0
IB	T1	N0	M0
	T2-3	N0	M0
IIA	T2-3	N0	M0
	T2-3	N0	M0
IIB	T2-3	N0	M0
	T1-2	N1	M0
IIIA	T1-2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T4a	N0	M0
IIIB	T3	N2	M0
IIIC	T4a	N1-2	M0
	T4b	Any	M0
	Any	N3	M0
IV	Any	Any	M1

Fonte: AJCC (American Joint Committee on Cancer, 2010)

O objetivo de classificar os tumores malignos em estágios auxilia no planejamento terapêutico, na avaliação dos resultados de tratamento, na indicação de prognósticos, na tentativa de correlacionar a doença com a sobrevida, além de contribuir para as pesquisas sobre o câncer e facilitar a troca de informações entre os centros de tratamentos (MOTTA, 2014).

De acordo com as diretrizes terapêuticas estabelecidas pelo Ministério da Saúde do Brasil, através Portaria nº 1.439, de 16 de dezembro de 2014, o tratamento para o câncer de esôfago é interdisciplinar, devendo ser inicializado o mais breve possível após a confirmação diagnóstica. Os métodos terapêuticos serão elaborados de acordo com a localização, o tipo histopatológico e o estadiamento (PORTARIA SAS/MS No1.439/ 2014). Para o tratamento do CE em estádios iniciais, estágio 0, Tis (displasia de alto grau), estágio I, T1a (lâmina própria) e T1b (submucosa), a equipe

multidisciplinar deve avaliar o paciente e decidir sobre o melhor método a ser utilizado ressecção endoscópica ou esofagectomia (PORTARIA SAS/MS No1.439/ 2014).

Para os estádios IB, IIA, IIB, IIIA e IIIB, a quimiorradioterapia concomitante ou quimioterapia perioperatória é indicada no início do tratamento prévio à cirurgia, sempre analisando as condições clínicas do paciente e somente se ele não possuir metástase (PORTARIA SAS/MS No1.439/ 2014).

Os casos de tumores de esôfago em estágio IIIC com T4a (pleura, pericárdio e diafragma) são operáveis; já com T4b (coração, grandes vasos, traqueia e órgãos adjacentes) são irreseccáveis. Tumores da junção esofagogástrica com comprometimento linfonodal supraclavicular ou em estágio IV não devem se submeter à técnica cirúrgica (PORTARIA SAS/MS No1.439/ 2014).

No entanto, tendo em vista que o tratamento do CEE é complexo e necessita de apoio multidisciplinar, apresentando variados modos terapêuticos, novos protocolos vêm aumentando sua aplicabilidade no mundo, por terem uma melhoria na sobrevida do paciente, com a implantação de quimiorradioterapia neoadjuvante ou quimioterapia perioperatório combinada com ressecção de esôfago, quando comparadas com o tratamento exclusivamente com a cirurgia (BOLLSCHWEILER *et al.*, 2017).

Apesar dos avanços nos tratamentos do CEE, apenas 29% dos pacientes atingem resposta patológica completa (VAN HAGEN *et al.*, 2012), o que demonstra que o prognóstico para esse tumor continua sombrio. Por se tratar de uma neoplasia com maior acometimento em países em desenvolvimento, o conhecimento dos mecanismos moleculares e celulares relacionados à gênese e progressão dessa neoplasia é bastante restrito e de suma importância para que se possa desenvolver terapêuticas mais eficazes que diminuam a alta letalidade e o péssimo prognóstico desse tipo de tumor. Nesse sentido, a autofagia chama a atenção como um interessante alvo de estudo para o CEE, uma vez que existe uma associação entre autofagia e resposta terapêutica ao tratamento quimioterápico já relatado para alguns tumores (MIZUSHIMA *et al.*, 2011). O CEE é um tumor heterogêneo, onde o gene supressor de tumor, TP53, ocorre precocemente na transformação neoplásica, sendo costumeiramente encontrado acometendo 70% dos pacientes com esse tipo de

doença (BELLINI *et al.*, 2012). A proteína codificada por TP53, p53, regula a autofagia, entretanto, já foi demonstrado, também, que a autofagia é capaz de reprimir as funções de p53 em resposta aos diferentes estresses celulares, e esse pode ser um mecanismo pelo qual a autofagia promove a tumorigênese (GUO *et al.*, 2013; RAO *et al.*, 2014; WHITE *et al.*, 2015).

Autofagia

O cientista belga Cristian De Duve, ganhador do prêmio nobel de medicina e descobridor dos lisossomos, em 1963, cunhou o termo autofagia (do grego *autos*, próprio e *phagin*, comer). A autofagia é um mecanismo de reciclagem do material intracelular através de organelas responsáveis chamadas de lisossomos que são capazes de realizar a digestão intracelular para a renovação de organelas e demais componentes celulares ou em modificações teciduais (DE DUVE, 1963).

A maquinaria autofágica central é codificada por genes relacionados a autofagia - ATG - (KTISTAKIS; TOOZE, 2016). Esses genes e seus produtos de proteínas são regulados por numerosas vias de sinalização, incluindo disponibilidade de nutrientes, estressores, organelas defeituosas e condições patogênicas (RABINOWITZ; WHITE, 2010; GUO *et al.*, 2016). Por convenção os genes relacionados à autofagia são representados por ATG e as proteínas por Atg (WANG; KLIONSKY, 2003).

A autofagia é um alto processo de conservação celular pelo qual materiais do citoplasma são degradados e reciclados para manter a energia de homeostase. Podendo ser classificada como autofagia mediada por chaperonas, microautofagia e macroautofagia (MIZUSHIMA, 2011).

Autofagia mediada por chaperonas está presente em células de mamíferos. São detectados por chaperonas que são uma família de proteínas essenciais na manutenção da homeostase proteica, e destinados para o interior dos lisossomos por transportadores específicos presentes na membrana lisossomal. Quando ocorre um

dano em uma proteína, há o acionamento do peptídeo sinal (Lys-Phe-Glu-Arg-Gln-KFERQ) reconhecido pelas chaperonas (MIZUSHIMA, 2011).

Microautofagia é uma via conservada desde leveduras até mamíferos, pelo qual ocorre o englobamento de porções do citosol por meio de invaginação. (VAN *et al.*, 2009).

Macroautofagia frequentemente nomeada de autofagia e a partir deste momento será tratada como tal neste artigo, é responsável por 90% da autofagia celular (BEHRENDTS, 2010). A autofagia é um sucessivo processo iniciado pela formação de uma membrana de isolamento chamada fagóforo que é a porção inicial da membrana do autofagossomo (MIZUSHIMA, 2011; KIM; LEE, 2014). O fagóforo é frequentemente visto como uma cisterna fina com um lúmen claro, é a estrutura que recruta proteínas relacionadas à autofagia para induzir a autofagia. Essa membrana de base lipídica depois se alonga e cria uma completa estrutura de duas membranas que circundam as organelas danificadas ou proteínas de vida longa (SRIDHAR *et al.*, 2012).

No final, autofagolissomos são formados para degradar o conteúdo, reciclando aminoácidos, ácidos graxos e nucleotídeos para manter homeostase energética e a viabilidade (SRIDHAR *et al.*, 2012; HUNDESHAGEN *et al.*, 2011). Autofagia ocorre frequentemente durante a tumorigênese e a quimioterapia. Em geral, a autofagia construtiva protege células cancerosas durante a quimioterapia, levando ao câncer resistência a drogas e câncer refratário (BUCHSER *et al.*, 2012).

A função autofágica é ativada em resposta a diversas condições estressantes da célula, incluindo danos na organela, presença de proteínas anormais e privação de nutrientes (XU; XIA; PAN, 2013; WU, 1998). O processo autofágico pode estar associado à morte celular ou a sobrevivência da célula. Em condições normais, as células utilizam níveis basais de autofagia para manter sua função biológica, homeostase, controle de qualidade e eliminação de velhas proteínas e organelas danificadas (BOYA; REGGIORI; CODOGNO, 2013; DESCHENES, 2014). A proteína p53 codificada pelo gene supressor tumoral TP53, atua na resposta a esses estressores ajustando a transcrição de genes ativando a autofagia, ou agindo por

mecanismos não transcricionais na adaptação ao estresse ou para excluir células não reparadas por apoptose. O fator de transcrição p53 regula a transcrição de genes envolvidos nas etapas de autofagia (ELLISEN *et al.*, 2002; ZHANG *et al.*, 2017).

As características clássicas da deficiência de autofagia são o acúmulo de proteínas e agregados de proteínas, lipídios, glicogênio e mitocôndrias danificadas, entre outras organelas. Esta falha na remoção de resíduos por autofagia altera significativamente a composição do proteoma, eleva o estresse oxidativo, promove a inflamação e geralmente pode alterar ou interromper a função celular. Dessa forma, a autofagia representa um processo celular fisiológico importante e seu desbalanço está associado a diversas patologias, incluindo neurodegeneração, doenças hepáticas, cardíacas e musculares, envelhecimento, inflamação e o câncer (XU *et al.*, 2012; WHITE *et al.*, 2015).

Autofagia e câncer

A autofagia no câncer pode ser neutra, supressora ou promotora de tumor dependendo do contexto. Análises genômicas em larga escala, demonstram que a perda ou a mutação de genes centrais de autofagia são incomuns, porém eventos oncogênicos pelo qual ativam autofagia e a biogênese lisossomal foram identificados. A autofagia impacta no metabolismo celular, o proteoma, a qualidade e quantidade de organelas, pelo qual alteram as funções celulares de diversas formas. Além disso, a autofagia influencia na interação entre o tumor e o hospedeiro promovendo estresse adaptativo e suprimindo a ativação da resposta imune inata e adaptativa. Autofagia também promove uma interação entre o tumor e o estroma, que pode suportar o crescimento tumoral no microambiente com suporte nutricional limitado (WHITE, 2013; BAIXAULI; LOPEZ-OTIN; MITTELBRUNN, 2014; PONPUAK, 2015).

No artigo, *Hallmarks of cancer: The Next Generation*, de Douglas Hanahan e Robert A. Weinber (HANAHAN; WEINBERG, 2011) que apresentam em seu artigo características comuns aos tumores, os autores através de estudos sugerem que a

indução da autofagia pode servir como barreira para a tumorigênese, além de também representar uma outra barreira que necessita ser contornada durante o desenvolvimento tumoral (WHITE; DIPAOLA, 2009) .

Entretanto, a falta de nutrientes, a radioterapia e certas drogas citotóxicas, podem induzir a elevados níveis de autofagia que aparentam citoprotogerem as células cancerosas, prejudicando ao invés de acentuar suas ações mortíferas contra elas (WHITE; DIPAOLA, 2009; APEL *et al.*, 2009; AMARAVADI; THOMPSON, 2007; MATHEW; KARANTZA-WADSWORTH; WHITE, 2007) .

Além disso, células cancerosas severamente estressadas mostraram encolher via autofagia para um estado de dormência reversível (WHITE; DIPAOLA, 2009; LU *et al.*, 2008). Essa resposta de sobrevivência torna possível a persistência e as eventuais regenerações de tumores passados que foram tratados com potenciais agentes anticancerígenos (APEL *et al.*, 2009; WHITE; DIPAOLA, 2009).

Autofagia, consequências para o fenótipo tumoral e aplicação como potencial alvo terapêutico

O microambiente tumoral é altamente complexo e dinâmico, desempenhando um papel central no controle do comportamento das células tumorais e na formação de metástases (CHOUAIB *et al.*, 2010). Níveis reduzidos de oxigênio e nutrientes e mau funcionamento da matriz extracelular (MEC) e do retículo endoplasmático (RE) são parâmetros críticos que modulam o microambiente tumoral. Conforme discutido acima, anormalidades no microambiente tumoral induzem a autofagia, para auxiliar na manutenção da viabilidade das células tumorais e pode promover a progressão do tumoral sob essas condições estressantes.

Os componentes da MEC modulam a autofagia e auxiliam no seu papel na sobrevivência celular. Em um modelo de cultura tridimensional usando células epiteliais mamárias cultivadas em condições de baixa aderência à MEC, a autofagia foi rapidamente induzida para aumentar a sobrevivência celular durante a apoptose

(DEBNATH *et al.*, 2002). Em relação ao processo metastático, as células tumorais devem se adaptar a um microambiente estressante, para poder metastatizar, uma vez que se disseminam na circulação sistêmica e colonizam órgãos distantes (KENIFIC *et al.*, 2010). É cada vez mais aceito que a autofagia confere vantagens seletivas às células tumorais em resposta a vários estresses no microambiente do tumor primário, bem como do microambiente durante a disseminação e metástase (ROY; DEBNATH, 2010).

Nesse sentido, há também uma relação entre a autofagia e prognóstico dos pacientes. O câncer de pâncreas é um tumor altamente maligno, devastador e mal compreendido. Nesse tumor, a hipóxia reconhecidamente aumenta seu potencial maligno. Na área periférica do tumor de pâncreas, a alta expressão da LC3, componente chave da autofagia e essencial para a formação dos vacúolos autofágicos, está associada a uma baixa sobrevida global e sobrevida livre de doença (FUJII *et al.*, 2008). Além disso, já foi relatado que uma célula tumoral já estabelecida pode explorar o processo autofágico para facilitar a sobrevivência quando tratada com um agente citotóxico, resultando em resistência ao tratamento e recorrência do tumor (BOYA *et al.*, 2005; LUM *et al.*, 2005).

No entanto, em certos casos, a autofagia também pode contribuir para a morte da célula tumoral e inibição da metástase. A expressão de Beclin 1 e LC3 encontra-se alterada em vários tipos de câncer humano. Um nível mais alto de expressão de Beclin 1 está fortemente associado à maior sobrevida de pacientes com câncer de cólon (LI *et al.*, 2009). Ainda, a ativação de Beclin 1 também mostrou estar significativamente associado à maior a sobrevida de pacientes com linfoma não Hodgkin (NICOTRA *et al.*, 2010). Além disso, Beclin 1 e LC3 tem sua expressão diminuída significativamente ao longo da progressão do melanoma (MIRACCO *et al.*, 2010).

Conforme discutido acima, as células tumorais adquirem vantagens de sobrevivência e proliferação, devido à autofagia, para lidar com os estresses do microambiente. Além disso, também é reconhecido que a autofagia elevada e/ou prolongada pode resultar em morte celular. Portanto, a inibição da autofagia induzida

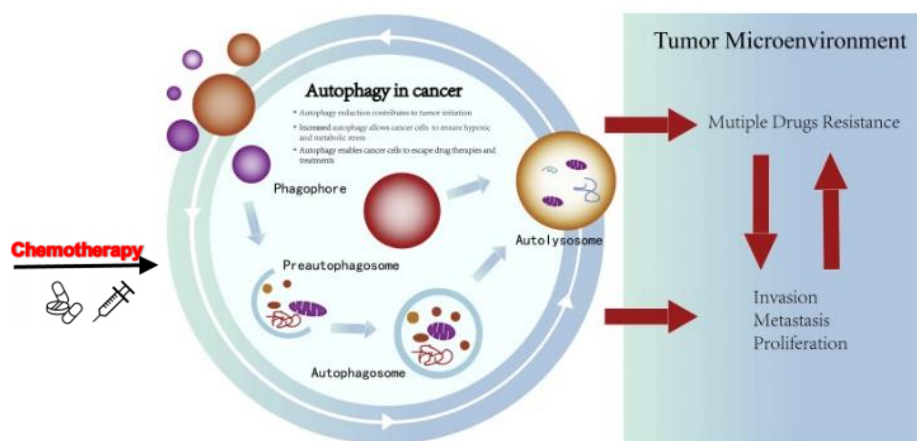
por estresses do microambiente tumoral ou o aumento excessivo desses, de forma a levar à morte celular autofágica, pode ser uma estratégia promissora para a terapia do câncer. Com base na correlação funcional entre os estresses microambientais e autofagia, uma série de novas alternativas terapêuticas contra o câncer foram exploradas (BUZZAI *et al.*, 2007; FELS *et al.*, 2008; SMITH *et al.*, 2008; KIM *et al.*, 2009; SALAZAR *et al.*, 2009; VOUSDEN *et al.*, 2009; ZISMANOV *et al.*, 2009; BEN SAHRA *et al.*, 2010; WEI *et al.*, 2010). No entanto, deve ser considerado que ainda não está claro se a autofagia deve ser induzida ou inibida no tratamento do câncer, uma vez que não está claro como a morte celular autofágica se distingue da autofagia durante a sobrevivência celular. Os dados produzidos até o momento apontam a autofagia como um importante novo alvo terapêutico, entretanto, para sua aplicação clínica, ainda será necessário o entendimento mais aprofundado dos biomarcadores associados com a modulação desse processo, além do desenvolvimento de métodos padronizados para avaliá-los.

Autofagia e CEE

Nos últimos anos, a investigação da autofagia vem ganhando importância no estudo dos tumores de esôfago e já foram publicados diversos trabalhos científicos sobre o tema. As implicações do processo autofágico tanto na progressão quanto como potencial alvo de tratamento são mais compreendidos no CEE do que no ADE. Em parte, isso ocorre porque foram desenvolvidos modelos *in vitro* a partir de linhagens celulares bem estabelecidas, que foram modificadas para se tornarem sensíveis ou resistentes a agentes quimioterápicos (O'DONAVAN *et al.*, 2011; NYHAN *et al.*, 2012). A partir desses modelos, resultados interessantes foram reportados demonstrando que células resistentes à quimioterapia ativam a autofagia, o que as capacita a se recuperar após o tratamento, em contraste com as células sensíveis, sugerindo que a resposta autofágica seja um mecanismo de sobrevivência que promove a quimiorresistência e recuperação das células resistentes (figura 03). Além

disso, a inibição da autofagia nas linhagens de células de CEE resistentes induziu uma maior sensibilidade ao tratamento quimioterápico e menor recuperação dessas células (O'DONAVAN *et al.*, 2011; NYHAN *et al.*, 2012). Entretanto, inibidores farmacológicos da autofagia não foram capazes de aumentar a citotoxicidade nas células tumorais esofágicas quimiorresistentes (O'DONAVAN *et al.*, 2011).

Figura 3. Autofagia interferindo na resistência quimioterápica



Fonte: Adaptado de LI *et al.*, 2019

Considerações finais

Conforme o exposto, muito pouco se sabe sobre a autofagia no CEE, entretanto estudos em busca de marcadores de resposta terapêutica vem sendo desenvolvidos. Vale ressaltar, que com base em toda literatura aqui exposta, a autofagia no CEE promoveria a resistência terapêutica. Sendo assim, estudos que identifiquem alterações nos mediadores da autofagia em CEE, podem fornecer informações valiosas sobre a fisiopatologia deste tipo de tumor.

Referências

ABNET, C. C. *et al.* **Epidemiology of esophageal squamous cell carcinoma.** 2018.

AJCC - American Joint Committee on Cancer. Disponível em: <<https://cancerstaging.org/Pages/default.aspx>>. Acesso em: 20 out. 2020.

AMARAVADI, R. K.; THOMPSON, C.B. **The roles of therapy-induced and autophagy and necrosis in cancer treatment.** Clin. Cancer Res, 2007.

APEL, A. *et al.* **Autophagy-A doubleedged sword in oncology.** Int. J. Cancer, 2009.

ARANTES, V. *et al.* **Avanços na abordagem do carcinoma precoce de esôfago.** Revista do Colegio Brasileiro de Cirurgioes, v. 39, n. 6, p. 534–543, 2012.

BAIXAULI, F.; LOPEZ-OTIN, C.; MITTELBRUNN, M. **Exosomes and autophagy: coordinated mechanisms for the maintenance of cellular fitness.** Front Immunol, 2014.

BEHRENDTS, C. *et al.* **Network organization of the human autophagy system.** Nature, 2010.

BELLINI, M. F. *et al.* **Alterations of the TP53 gene in gastric and esophageal carcinogenesis.** J Biomed Biotechnol, 2012.

BEN SAHRA, I. *et al.* **Targeting cancer cell metabolism: the combination of metformin and 2-deoxyglucose induces p53-dependent apoptosis in prostate cancer cells.** Cancer Res. 70, 2465–2475. 2010.

BOLLSCHWEILER, E. *et al.* **Current and future treatment options for esophageal cancer in the elderly.** Expert Opinion on Pharmacotherapy, v. 18, n. 10, p. 1001–1010, 2017.

BOYA, P. *et al.* **Inhibition of macroautophagy triggers apoptosis.** Mol Cell Biol, 25(3), Feb,pp. 1025-1040. 2005.

BOYA, P.; REGGIORI, F.; CODOGNO P.; **Emerging regulation and functions of autophagy.** Nat Cell Biol. 2013.

BRAY, F. *et al.* **Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries,** 2018.

BUCHSER, W. J. *et al.* **Cell-mediated autophagy promotes cancer cell survival.** Cancer Res. 2012.

BUZZAI, M. *et al.* **Systemic treatment with the antidiabetic drug metformin selectively impairs p53-deficient tumor cell growth.** *Cancer Res.* 2007.

CALVET, X. **Enfermedades esofágicas:** enfermedad por reflujo gastroesofágico, Barrett, acalasia y esofagitis eosinofílica [Oesophageal diseases: gastroesophageal reflux disease, Barrett's disease, achalasia and eosinophilic oesophagitis]. *Gastroenterol Hepatol*, 2015.

CASTELLSAGUE, X.; MUNOZ, N.; DE, Stefani. **Influence of mate drinking, hot beverages and diet on esophageal câncer risk in South America.** *Int. J. Cancre*, 2000.

CHAINANI, WU N. **Diet and oral, pharyngeal, and esophageal cancer.** *Nutr Cancer*, 2002.

CHEN, Y. *et al.* **Autophagy-related proteins LC3 and Beclin-1 impact the efficacy of chemoradiation on esophageal squamous cell carcinoma.** 2013.

CHOUAIB, S. *et al.* **Endothelial cells as key determinants of the tumor microenvironment:** interaction with tumor cells, extracellular matrix and immune killer cells. *Crit. Rev. Immunol.* 30, 529–545, 2010.

COSTA, C. *et al.* **The dual role of candida glabrata drug:H⁺ antiporter CgAqr1 (ORF CAGL0J09944g) in antifungal drug and acetic acid resistance.** *Front Microbiol*, 2013.

CRADDOCK, V.W. **Cancer of the Oesophagus.** Oxford University Press, Oxford, UK, 1993.

DA COSTA, N. M. *et al.* **The potential of molecular markers to improve interventions through the natural history of oesophageal squamous cell carcinoma.** *Bioscience Reports*, v. 33, n. 4, p. 627–636, 2013.

DALBY, K.N. *et al.* **Targeting the prodeath and prosurvival functions of autophagy as novel therapeutic strategies in cancer.** 2010.

DE DUVE, C. **The lysosome In:** The living Cell, readings from Scientific American. W. H. Freeman and Company. San Francisco and London. 1963.

DEBNATH, J *et al.* **The role of apoptosis in creating and maintaining luminal space within normal and oncogene-expressing mammary acini.** *Cell* 111, 29–40, 2002.

Graduação - Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina - Carcinoma Epidermoide de Esôfago (Neoplasia Epitelial Maligna). Disponível em:

<<http://patologia.medicina.ufrj.br/index.php/histopatologia-geral/177-neoplasia-maligna/carcinoma-epidermoide/esofagiano/26-carcinoma-epidermoide-de-esofago-neoplasia-epitelial-maligna>>. Acesso em: 20 out. 2020.

DESCHENES-SIMARD, X. **Cellular senescence and protein degradation breaking down cancer**. Cell Cycle. 2014.

DI PIETRO, M.; CANTO, M. I.; FITZGERALD, R. C. **Endoscopic Management of Early Adenocarcinoma and Squamous Cell Carcinoma of the Esophagus: Screening, Diagnosis, and Therapy**. Gastroenterology, v. 154, n. 2, p. 421–436, 2018.

DOLL, R. **The Pierre Denoix Memorial Lecture: nature and nurture in the control of cancer**. Eur J Cancer, 1999.

ELLISEN, LW. *et al.* **REDD1, a developmentally regulated transcriptional target of p63 and p53, links p63 to regulation of reactive oxygen species**. Mol Cell. 2002.

ESLICK, G. D. **Esophageal Cancer: A Historical Perspective**. Gastroenterology Clinics of North America, v. 38, n. 1, p. 1–15, 2009.

FUJII, T. *et al.* **Resource assessment of methane hydrate in the eastern Nankai Trough, Japan Proceedings of 2008 Offshore Technology Conference**, Houston, Texas, U.S.A., 2008.

GUO JY, *et al.* **Autophagy-mediated tumor promotion**. Cell 155: 1216–1219. 2013

GUO, J.Y. *et al.* **Autophagy provides metabolic substrates to maintain energy charge and nucleotide pools in Ras-driven lung cancer cells**. Genes Dev, 2016.

HALL, T.M. *et al.* **Autophagy as a cytoprotective mechanism in esophageal squamous cell carcinoma**. Curr Opin Pharmacol. 2018.

HANAHAH, D.; WEINBERG, R. A. **Hallmarks of cancer: The next generation**. Cell, v. 144, n. 5, p. 646–674, 2011.

HEATH, E. L. *et al.* **Adenocarcinoma of the esophagus: risk factors and prevention**. Oncology (Williston Park), 2000.

HUNDESHAGEN, P. *et al.* **Concurrent detection of autolysosome formation and lysosomal degradation by flow cytometry in a high-content screen for inducers of autophagy**. BMC Biol. 2011.

INCA - Instituto Nacional de Câncer | Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil>>. Acesso em: 4 out. 2020.

ISLAMI, F. *et al.* **Hightemperature beverages and foods and esophageal cancer risk-a systematic.** review. *Int. J. Cancer*, 2009.

KENIFIC, C. M. *et al.* **NBR1 enables autophagy-dependent focal adhesion turnover.** *J Cell Biol*, 2016.

KIM, H. J. *et al.* Human gut-on-a-chip inhabited by microbial flora that experiences intestinal peristalsis-like motions and flow. *Lab Chip* 12, 2165–2174. 2012.

KIM, K. H.; LEE, M-S. **Autophagy-a key player in cellular and body metabolism.** *Nat Rev Endocrinol*, 2014.

KONDO, Y. *et al.* **The role of autophagy in cancer development and response to therapy.** 2005.

KTISTAKIS, N. T.; TOOZE, S. A. **Digesting the Expanding Mechanisms of Autophagy.** *Trends Cell Biol*, 2016.

LAGERGREN, J.; LAGERGREN, P. **Oesophageal cancer.** *BMJ*, 2010.

LI, X. *et al.* Autophagy: A novel mechanism of chemoresistance in cancers. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 119, n. May, 2019.

LI, Y. *et al.* **ReTRN: a retriever of real transcriptional regulatory network and expression data for evaluating structure learning algorithm.** *Genomics* 94(5):349-54, 2009.

LU, Z. *et al.* **The tumor suppressor gene ARHI regulates autophagy and tumor dormancy in human ovarian cancer cells.** *J. Clin. Invest*, 2008.

LUBIN, J. H. *et al.* **Beber mate e carcinoma espinocelular de esôfago na América do Sul: resultados combinados de dois grandes estudos multicêntricos de caso-controle.** *Cancer Epidemiol Biomarkers*, 2014.

LUM, J. J. *et al.* **Growth factor regulation of autophagy and cell survival in the absence of apoptosis.** *Cell*, 120(2), Jan 28,pp. 237-24, 2005.

MATHEW, R.; KARANTZA-WADSWORTH, V.; WHITE, E. **Role of autophagy in cancer.** *Nat. Rev. Cancer*, 2007.

MIRACCO, C. *et al.* **Beclin 1 and LC3 autophagic gene expression in cutaneous melanocytic lesions.** *Human pathology*, 41(4), 503-512, 2010.

MIZUSHIMA, N. **A brief history of autophagy from cell biology to physiology and disease.** 2018.

- MIZUSHIMA, K. M. *et al.* **Autophagy: renovation of cells and tissues.** Cell. 2011.
- MIZUSHIMA, N. *et al.* **The role of Atg proteins in autophagosome formation.** 2011.
- MOTTA, T. C. **Estadiamento avaliação de resposta tumoral.** 2014.
- National Center for Biotechnology Information.** Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>>. Acesso em: 28 out. 2020.
- NICOTRA, A. B. *et al.* **Plant phenotypic plasticity in a changing climate.** Trends in Plant Science, 15, 684–692, 2010.
- NYHAN, M.J. *et al.* **The BH3 mimetic HA14-1 enhances 5-fluorouracil-induced autophagy and type II cell death in oesophageal cancer cells.** 2012.
- O'DONOVAN, T.R. *et al.* **Induction of autophagy by drug-resistant esophageal cancer cells promotes their survival and recovery following treatment with chemotherapeutics.** 2011.
- PONPUAK, M. **Secretory autophagy.** Curr Opin Cell Biol, 2015.
- PORTARIA SAS/MS Nº1.439/ 2014 - **MINISTÉRIO DA SAÚDE SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE PORTARIA Nº1.439** . [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.saude.gov.br/sas>. Acesso em: 13 out. 2020.
- Programa Nacional de Controle do Tabagismo | INCA - Instituto Nacional de Câncer.** Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/programa-nacional-de-controle-do-tabagismo>>. Acesso em: 5 out. 2020.
- RABINOWITZ, J.D.; WHITE, E. **Autophagy and metabolism.** Science. 2010.
- RAO, S. *et al.* **A dual role for autophagy in a murine model of lung cancer.** Nat Commun 5: 3056. 2014.
- ROBBINS; COTRAN. **Patologia** — Bases Patológicas das Doenças, Capítulo 17: O Trato Gastrointestinal, 2010.
- ROY, S.; DEBNATH, J. **Autophagy and Tumorigenesis. Seminars in immunopathology.** 32. 383-96. 10.1007/s00281-010-0213-0, 2010.
- RUSTGI, A. K.; EL-SERAG, H. B. Esophageal carcinoma. **New England Journal of Medicine**, v. 371, n. 26, p. 2499–2509, 2014.
- SALAZAR, M. *et al.* **Cannabinoid action induces autophagy-mediated cell**

death through stimulation of ER stress in human glioma cells. *J Clin Invest*, 2009.

SCHERZ-SHOVAL, R. *et al.* **p53-dependent regulation of autophagy protein LC3 supports cancer cell survival under prolonged starvation.** 2010.

SINGH, S.S. *et al.* **Dual role of autophagy in hallmarks of cancer.** 2017.

SMITH, J. *et al.* **Evidence for pore formation in host cell membranes by ESX-1-secreted ESAT-6 and its role in Mycobacterium marinum escape from the vacuole.** *Infect. Immun.* 76, 5478–5487, 2008.

SRIDHAR, S. *et al.* **Autophagy and disease: Always two sides to a problem.** *J Pathol.* 2012.

STEWART, W. B.; WILD, P. C. **World Cancer report 2014.** France. International Agency for Research on Cancer, 2014.

VAN, L. J. *et al.* **Autophagy: from basic science to clinical application.** *Mucosal immunology*, 2(4), pp.315–30, 2009.

VAN HAGEN, P. *et al.* **Preoperative chemoradiotherapy for esophageal or junctional cancer.** *New England Journal of Medicine*, v. 366, n. 22, p. 2074–2084, 2012.

VOUSDEN, K *et al.* **p53 and metabolism.** *Nat Rev Cancer* 9, 691–700, 2009.

WEI, G. *et al.* Trp-26 imparts functional versatility to human α -defensin HNP. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 21, p. 16275–16285, 2010.

WANG, C. W.; KLIONSKY, D. J. **The molecular mechanism of autophagy.** *Mol Med.*, 2003.

WANG, H.; CHEN, L. **Tumor microenvironment and hepatocellular carcinoma metastasis.** 2013.

WEIDBERG, H. *et al.* **LC3 and GATE-16/ GABARAP subfamilies are both essential yet act differently in autophagosome biogenesis.** *Embo j.* 2010.

WHITE, E.; DIPAOLA, R. S. **The double-edged sword of autophagy modulation in cancer.** *Clin. Cancer Res.* 2009.

WHITE, E. **Exploiting the bad eating habits of Ras-driven cancers.** *Genes Dev*, 2013.

WHITE, E. **The role for autophagy in cancer.** J Clin Invest 125: 42–46. 2015.

WU, M.S. *et al.* **Overexpression of mutant p53 and c-erb-B2 proteins and mutations of the p15 and p16 genes in human gastric carcinoma: with respect to histological subtypes and stages.** 1998.

WU, M. S. **Overexpression of mutant p53 and c-erbB-2 proteins and mutations of the p15 and p16 genes in human gastric carcinoma:** with respect to histological subtypes and stages. J Gastroenterol Hepatol. 1998.

XIE, S. H.; LAGERGREN, J. **Risk factors for oesophageal cancer.** Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology, v. 36–37, p. 3–8, 2018.

XU, M. *et al.* **Timing of transcriptional quiescence during gametogenesis is controlled by global histone H3K4 demethylation.** Dev Cell 23(5):1059-71. 2012

XU, Y; XIA, X.; PAN, H. **Active autophagy in the tumor microenvironment:** A novel mechanism for cancer metastasis (Review). Oncol Lett 5: 411-416, 2013.

ZHANG Z, *et al.* **The tumor suppressor p53 regulates autophagosomal and lysosomal biogenesis in lung cancer cells by targeting transcription factor EB.** Biomed Pharmacother. 2017.

ZHENG, X. *et al.* **Massive endoscopic screening for esophageal and gastric cancers in a high- risk area of China.** PLoS ONE, v. 10, n. 12, p. 1–10, 2015.

ZISMANOV, V. *et al.* **Tetraspanin-induced death of myeloma cell lines is autophagic and involves increased UPR signalling.** Br J Cancer 101: 1402-1409, 2009.