



---

---

**ARTIGO DE REVISÃO**

---

---

**MODULAÇÃO DA AUTOFAGIA COMO ESTRATÉGIA TERAPÊUTICA CONTRA O CÂNCER****AUTOPHAGY MODULATION AS A THERAPEUTIC STRATEGY AGAINST CANCER**

Maryana do Nascimento da Silva<sup>1</sup>  
Waleska Kerllen Martins<sup>2</sup>

**RESUMO**

A autofagia é uma via metabólica essencial para a manutenção da homeostase celular, e pode desempenhar diferentes papéis dentro do contexto fisiológico e patológico. Por este motivo tem sido foco de muitos estudos por ser um alvo terapêutico promissor, principalmente contra o câncer, onde atua de maneira ambígua, podendo suprimir ou promover o tumor de acordo com o contexto. Compreender a base molecular desse mecanismo é de interesse emergente para se alcançar terapias eficazes utilizando a modulação da autofagia. Neste trabalho, realizou-se uma revisão da literatura para abordar o papel da autofagia na biologia do câncer e como ela pode ser usada como estratégia terapêutica antitumoral através de sua ativação ou inibição no tratamento de vários tipos e estágios do câncer.

**Descritores:** Autofagia. Câncer. Inibição/Ativação da Autofagia.

**ABSTRACT**

Autophagy is an essential metabolic pathway for the maintenance of cellular homeostasis and may play different roles within the physiological and pathological context. For this reason, it has been the focus of many studies because it is a promising therapeutic target, especially against cancer, in which plays a duo role, and it may suppress or promote the tumor according to the context. Understanding the molecular basis of this mechanism is an emerging interest to provide effective therapies using autophagy modulation. In this paper, we performed a literature review to address the role of autophagy in cancer biology and how it can be used as an antitumoral therapeutic strategy through its activation or inhibition to treat various types and stages of cancer.

**Keywords:** Autophagy. Cancer. Autophagy Inhibition/Activation.

**INTRODUÇÃO**

A autofagia (ou macroautofagia) é um processo catabólico altamente conservado em eucariotas que desempenha um papel vital no metabolismo celular, sinalização, imunidade,

---

<sup>1</sup> Mestranda em Biotecnologia e Inovação em Saúde – Universidade Anhanguera de São Paulo (UNIAN-SP). E-mail: maryy.nss@gmail.com.

<sup>2</sup> Farmacêutica, Doutora em Oncologia, Docente-pesquisadora - Universidade Anhanguera de São Paulo (UNIAN-SP). E-mail: wkerllenmartins@gmail.com.



longevidade, desenvolvimento e diferenciação. Durante a autofagia, organelas senescentes e proteínas celulares são sequestradas em vacúolos autofágicos (autofagossomas), os quais subsequentemente se ligam aos lisossomas (autolisossomas), onde por fim são degradados, e cujos produtos de degradação são reutilizados por anabolismo. Nesse cenário, destaca-se a mitofagia, um tipo seletivo de autofagia que especificamente lida com a remoção efetiva de mitocôndrias senescentes e defeituosas, de forma a garantir a homeostase celular. Defeitos no processo de autofagia têm sido comumente associados a várias doenças, incluindo câncer, neurodegeneração, infecções microbianas, distúrbios imunes e metabólicos, bem como o envelhecimento, mas cujos mecanismos ainda não foram totalmente definidos (1,2).

Existem três tipos principais de autofagia: a microautofagia, a autofagia mediada por chaperonas (AMC) e a macroautofagia, todas envolvendo material citoplasmático (Figura 1). A microautofagia se dá pela internalização direta do conteúdo citoplasmático através da invaginação da membrana lisossômica, ou no caso de microautofagia endossômica, da membrana de endossomos tardios. A autofagia mediada por chaperonas é um processo específico, pois se trata da degradação apenas de proteínas solúveis apresentando um pentapeptídeo de sequência KFERQ, o que corresponde a cerca de 30% das proteínas citosólicas - incluindo enzimas glicolíticas, fatores de transcrição e seus inibidores, proteínas de ligação de cálcio e lipídios, subunidades de proteassoma e proteínas envolvidas no tráfico vesicular. Cerca 40% das proteínas no proteoma de mamífero contêm um motivo canônico do tipo KFERQ. Essa sequência KFERQ ao ser reconhecida pelo HSC70, uma proteína chaperona presente em AMC-competentes lisossomas, faz com que haja internalização o lúmen lisossomal através de um receptor de membrana chamado LAMP2A. Já a macroautofagia (ou simplesmente referida aqui como autofagia) é controlada centralmente pela família de genes relacionados à autofagia (ATGs), que é modulada por várias quinases incluindo mTOR, fosfoinositol 3-kinase (PI3K)/AKT, AMPK e MAPK (3).

Após a indução da autofagia, ocorre a formação de uma estrutura de membrana dupla chamada fagóforo no citoplasma. O fagóforo alonga-se envolvendo organelas e macromoléculas, tornando-se uma vesícula de membrana dupla, que após a maturação passa a ser chamada de autofagossoma. Este após fundir-se com o lisossoma se torna um autolisossoma capaz de degradar o conteúdo vesicular devido à ação de hidrolases lisossômicas. A formação do autofagossoma se dá pelo recrutamento hierárquico de proteínas ATG realizado em várias etapas: iniciação, nucleação, alongamento, fusão e degradação (Figura 2). Ao menos seis grupos funcionais de proteínas ATG são essenciais para o processo: o complexo ULK, composto pelas proteínas ULK1 e 2; ATG13; FIP200 e



ATG101; o complexo PI3K classe III, composto pelas proteínas VSP34, VSP15 ou p150; Beclin-1; ATG14L; a proteína transmembranar ATG9; as proteínas WIPI e dois sistemas de conjugação do tipo ubiquitina, o sistema ATG12-ATG5 e o sistema LC3-PE (Figura 2), como revisado (3).

O início da autofagia ocorre a partir da ativação do complexo ULK1/2 após a supressão do complexo mTORC1 em situações de depleção de nutrientes ou por inibição pela proteína AMPK, sensível à queda dos níveis de ATP/AMP. Deste modo o complexo ULK1/2 permanece de-fosforilado estando, portanto, ativado. O complexo ULK1/2 ativado se transloca para a membrana do retículo endoplasmático (RE), recrutando ATG9 e o complexo I PI3K classe III, o qual é então ativado pela fosforilação do complexo ULK1/2 produzindo o lipídio PI3P. Em seguida, PIP3 recruta proteína de ligação, tais como WIPI e DFCP1, formando um agregado com consequente alteração, alongamento do fagóforo. Tal recrutamento de ATG9 é dependente de ULK1 sendo essencial para o fornecimento de componentes de membrana para o fagóforo. Seu alongamento é regido por dois sistemas de conjugação do tipo ubiquitina, o sistema ATG12-ATG5 e o sistema LC3-PE. No sistema de conjugação ATG12-ATG5, ATG12 é conjugado a ATG5 por reações sequenciais do tipo ubiquitina mediadas por ATG7 (enzima do tipo E1) e ATG10 (enzima do tipo E2). A PROLC3 é clivada no seu terminal C pela protease ATG4 para gerar o LC3-I citosólico, que por sua vez é conjugado com fosfatidiletanolamina (PE), resultando a forma lipidada de LC3 (LC3-II), a qual é anexada à membrana do autofagossoma. Tanto ATG7 e ATG3 quanto o complexo multimérico ATG12-ATG5-ATG16L (enzima do tipo E3) participam da conjugação de LC3-II e PE (Figura 2). LC3-II é encontrado nas superfícies lúmen e citosólica dos autofagossomas, apresentando um papel importante não apenas no fechamento da membrana e no reconhecimento seletivo da carga (p. ex. mitocôndria), mas também na fusão do autofagossoma com os lisossomas. O LC3-II no lúmen é degradado após a fusão com lisossomas, enquanto aquele no lado citosólico pode ser delipidado e reciclado. Nos eucariotos superiores, LC3 é a única proteína conhecida que se associa especificamente a autofagossomas e autolisossomas. Uma vez que os autofagossomas englobaram os substratos, eles podem se fundir com endossomas ou lisossomas tardios para formar anfisomas, ou autolisossomas, respectivamente. A maquinaria molecular responsável por esses eventos de fusão e maturação é principalmente mediada por três conjuntos de famílias de proteínas relacionadas ao transporte de vesículas, as SNAREs, Rabs, complexo HOPS e lipídios, como revisado (3–5).

Vários casos não canônicos de autofagia que ocorrem independentemente de componentes específicos do processo autofágico também foram descritos. Isso sugere a existência de redundância funcional nos mecanismos moleculares subjacentes às respostas autofágicas (pelo menos nos



mamíferos). Uma dessas vias, a fagocitose associada ao LC3 (LAP), envolve o recrutamento de partes da maquinaria autofágica para os fagossomas, seguido pela lipidação de LC3 e fusão de fagossomas aos lisossomas para degradação. O LAP prossegue independentemente do complexo ULK1, AMBRA1 e ATG14 (que são necessários para a autofagia canônica). Contudo, depende de LC3, RUN, RUBCN (proteína de interação Beclin-1 contendo domínio rico em cisteína), e NADPH oxidase 2, os quais são dispensáveis para autofagia canônica. Finalmente, a maquinaria molecular para autofagia canônica e LAP compartilham múltiplos componentes, incluindo Beclin-1, VPS34, UVRAG, ATG3, ATG5, ATG7, ATG12 e ATG16L1, como revisado (6).

### **Modulação farmacológica da autofagia**

Nas últimas décadas o estudo da autofagia tem se expandido, tanto na compreensão mecanística quanto fisiopatológica de diversas condições às quais está associada, como doenças neurodegenerativas, infecciosas, autoimunes, cardiovasculares, metabólicas e câncer, sendo esta última a primeira doença a ser relacionada com a autofagia. A interação entre a autofagia e o desenvolvimento, e proliferação de células neoplásicas é complexa, uma vez que algumas evidências apontam a autofagia como um supressor de tumor, enquanto outras a indicam na promoção da proliferação celular e manutenção da homeostase. A autofagia desempenha papéis diferentes na biologia do câncer, dependendo do tipo e contexto tumoral. Assim, ao explorar sua atuação e modulação, indicaram-na como promissora estratégia de tratamento na oncologia. Estratégias voltadas à modulação da autofagia têm o potencial de melhorar a eficácia da quimioterapia e da radioterapia. Considerando-se o duplo papel da autofagia na citoproteção e na progressão tumoral, é vital estudar como a autofagia afeta a biologia do câncer, de modo a mudar seu direcionamento e atingir o objetivo de se criar uma terapia bem-sucedida. Alvos farmacológicos têm sido identificados em quase todas as etapas do processo autofágico, da formação do autofagossoma à degradação lisossômica, e à sinalização celular, sendo explorados com sucesso variável (1,7–11).

Em linhas gerais, ao se modular a autofagia em tumores, seja ativando ou inibindo, há comprometimento da homeostase celular em consequência do acúmulo de vacúolos autofágicos, diminuição exacerbada da carga autofágica (p. ex. mitocôndrias) ou aumento do produto autofágico, o que nessas circunstâncias pode resultar em morte celular (Figura 3) (6). De acordo com o *Nomenclature Committee on Cell Death* (NCCD), uma forma de morte celular regulada (RCD) que depende mecanisticamente do processo autofágico (ou de seus componentes) é denominada morte celular dependente de autofagia (12). No entanto, essa possibilidade deve ser abordada



experimentalmente com ferramentas farmacológicas e genéticas específicas. A descrição detalhada da maquinaria molecular, subjacente às respostas autofágicas constitutivas e induzíveis, está além do escopo desta revisão. No entanto, veja a revisão de Galluzzi e colaboradores (6) para maiores detalhes.

### **Inibidores da Autofagia**

A autofagia confere tolerância ao estresse o que garante às células tumorais a manutenção da homeostase metabólica e a adaptação à hipóxia, bem como resistência ao estresse induzido pela quimioterapia, radioterapia e terapia fotodinâmica. Logo, a ativação da autofagia confere uma vantagem ao tumor favorecendo seu crescimento por vários mecanismos, sendo assim, os inibidores farmacológicos da autofagia potenciais antineoplásicos, pelo menos em alguns contextos. Em resumo, a eficácia de quimioterápicos em diferentes modelos de câncer é limitada devido à indução de autofagia protetora e indesejada que pode ser superada por interferências em diferentes níveis da via autofágica. Principalmente, os inibidores de lisossomas que se mostram eficazes em inibir tanto a autofagia canônica quanto não-canônica. Interessantemente, a indução da autofagia foi observada em células-tronco tumorais (CTTs) de diversas neoplasias malignas, e a inibição do fluxo autofágico nessas células reduziu seu potencial regenerativo. Portanto, a inibição da autofagia pode ser uma estratégia interessante para erradicar as CTTs e evitar a transição epitélio-mesenquimal, e consequentemente prevenir metástases e recidiva da doença (9,13,14).

As abordagens supressoras da autofagia incluem inibidores de PI3K classe III, inibidores do tipo vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase, alcalinizadores do lúmen lisossômico e inibidores de protease ácida. Os inibidores geralmente são direcionados para as etapas envolvidas na nucleação e extensão do fagóforo, ou interferem no processo de acidificação endossômica/lisossômica, impossibilitando assim a fusão de autofagossomas e lisossomas, e consequentemente impedindo a degradação da carga. O mecanismo de ação detalhado desses inibidores permanece pouco compreendido, exigindo maior elucidação dos mecanismos subjacentes pelos quais esses compostos inibem o crescimento de células tumorais. Wortmanina, 3-Metiladenina (3-MA), Lys05 e LY294002 suprimem a autofagia ao inibir PI3K classe III, o qual é essencial para a produção de PIP3 (PI-3,4,5-tri-fosfato) lipídio importante na nucleação e extensão do fagóforo. Wortmanina como adjuvante de cisplatina durante a quimioterapia foi capaz de diminuir a resistência das células tumorais de ovário ao aumentar a indução de apoptose (15–19).

Os inibidores que atuam na fase tardia da autofagia (Figura 4), incluindo compostos que podem impedir o bloqueio da fusão de autofagossomas com lisossomas ou a degradação lisossômica da carga autofágica (por exemplo, ácido betulínico). O aumento da neutralização do pH



intralissossômico pela bafilomicina A1, cloroquina (CQ) e seus análogos (por exemplo, hidroxicloroquina, HCQ) ou  $\text{NH}_4\text{Cl}$  impede a atividade digestiva das hidrolases, levando à inibição da função degradativa dos autolisossomas (20–25).

As quinolonas CQ, HCQ e outros derivados têm sido amplamente explorados por suas aplicações terapêuticas no tratamento do câncer. CQ, por exemplo, é um medicamento aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA), sendo comumente usada no tratamento da malária, lúpus eritematoso sistêmico, e artrite reumatoide, mas seu potencial como fármaco antitumoral surgiu recentemente. CQ e HCQ são agentes lisossomotrópicos que desacidificam eficientemente lisossomas, por serem bases fracas. Assim, quando CQ e HCQ entram no lisossoma, tornam-se protonadas por causa do baixo pH dentro do lúmen lisossomal. O acúmulo destas formas protonadas no lisossoma leva a condições menos ácidas, portanto, à função lisossômica diminuída. Esta propriedade estabelece CQ como o fármaco mais utilizado para inibir a autofagia *in vitro* e *in vivo*. No entanto, recentemente foi proposto por Reggiori e colegas (2018) que CQ não é um substituto fidedigno para outros inibidores lisossômicos de fase tardia para experimentos *in vivo*. Mesmo assim, ela inibe a autofagia ao prejudicar a fusão de autofagossomas com os lisossomas, assim como a acidez e /ou a atividade degradativa dessa organela. Dessa forma, CQ pode potencializar o efeito antitumoral quando usada em combinação com diferentes quimioterápicos no tratamento de câncer de mama, cólon, glioma e glioblastoma, os quais sabidamente ativam a autofagia pró-sobrevida. Lys05, homólogo estrutural de CQ, é outro inibidor de autofagia desenvolvido recentemente, que provou ser mais potente que CQ (17,18,26–32).

Bafilomicina A1 (Baf-A1) é outro inibidor lisossômico que suprime a autofagia, inibindo a fusão lisossômica aos autofagossomas, tornando-os disfuncionais, assim como perturbando a acidez dos lisossomas por inibir a  $\text{H}^+$ -ATPase. Além disso, Baf-A1 pode bloquear a fusão de lisossomas com autofagossomas, devido à inibição da atividade de ATP2A/SERCA, independentemente do seu efeito no pH intralissossômico (33,34).

### **Indutores da Autofagia**

Apesar das evidências apontarem a indução da autofagia como mecanismo citoprotetor diante aos tratamentos antitumorais, há indícios que em vigência da sua superativação pode haver consequências prejudiciais à viabilidade celular e, portanto, representar uma estratégia antitumoral relevante. No entanto, a literatura não revela um único caso convincente de morte celular de mamífero que seria verdadeiramente mediado pela autofagia, e que não envolvesse nenhuma contribuição de



outras cascatas de sinalização letais, incluindo a apoptótica. Aparentemente a dicotomia entre a autofagia pró-sobrevivência e pró-morte pode se relacionar à extensão e duração do processo autofágico. Vários estudos sugerem que, pelo menos em alguns casos, não é simplesmente a desregulação de sua ativação da autofagia inespecífica, mas a remoção seletiva de substratos tal como mitocôndrias (p. ex., mitofagia) que promove a morte celular (Figura 3). O estresse oxidativo é uma característica chave observada em muitas ocasiões de morte celular dependente de autofagia (12,35–39).

A via PI3K/AKT/mTOR é uma das cascatas de sinalização desreguladas mais frequentemente em neoplasias malignas humanas, desempenhando um papel central na regulação da autofagia, síntese de proteínas, de lipídios e nucleotídeos, além de crescimento celular, proliferação e metabolismo. Assim, uma vez desregulada, essa via central de sinalização pode contribuir para a resistência do tumor a uma variedade de drogas antineoplásicas e radioterapia. Esses achados impulsionaram o desenvolvimento de inibidores da via PI3K que incluem inibidores específicos de PI3K classe I e de AKT, bem como inibidores de mTORC1 e mTORC2 (Figura 4). Curiosamente, a interrupção da sinalização PI3K/AKT aumenta drasticamente a eficácia dos inibidores de mTORC1 (19,40).

Pela autofagia ser regulada negativamente por mTORC1, a maioria dos indutores do processo autofágico opera inibindo-o (Figura 4), o que leva à ativação de ULK1 e da cascata de eventos para formação do fagóforo, e degradação do sistema lisossomal-autofágico (16,17,41,42). Entre a ampla classe de inibidores de mTORC1, dois compostos foram aprovados pelo FDA para o tratamento de carcinoma de células renais, por exemplo, temsirolimo (Pfizer) e everolimo (Novartis). Temsirolimo, análogo mais solúvel de rapamicina, ao ser combinado a um inibidor lisossomal (HCQ) modula a autofagia em pacientes com tumores sólidos avançados, com consequente atividade antitumoral significativa, de forma segura e tolerável (43). Já o efeito antitumoral de everolimo na leucemia linfoblástica aguda foi associado à excessiva ativação autofágica independente da ativação de caspase-3 (44). Assim, o aprimoramento da autofagia através da inibição do mTORC1 pode ser de particular interesse para o tratamento tumoral principalmente em casos de resistência às quimioterapias associada a defeitos na via apoptótica (40,43,44). Recentemente, os inibidores de segunda geração de mTORC1/2 ATP-competitivos estão em ensaios clínicos como agentes antitumorais (Figura 4), os quais têm atividade antitumoral via potencialização da autofagia tanto *in vitro* quanto *in vivo* (45–52).

A sensibilidade aos inibidores específicos de AKT depende da ativação da via PI3K/AKT/mTOR nas células tumorais (Figura 4). Embora perifosina seja tolerável, não foi eficaz como monoterapia para glioblastoma recorrente, segundo ensaio clínico de fase II (53). Contudo, em



combinação com o inibidor de mTORC1 (temsirolimo), perifosina promove efeitos sinérgicos antiproliferativos, independentemente do status de PTEN (54). Recentemente, através de um estudo clínico de fase I mostrou-se que a combinação desses compostos apesar de ser segura e viável em pacientes com tumores sólidos pediátricos recorrentes/refratários, não levou a respostas objetivas o que sugere que essa combinação possa ser associada a agentes adicionais no futuro (55).

Em modelos pré-clínicos, o inibidor alostérico de AKT (MK-2206) aumenta a atividade de quimioterápicos (carboplatina, gemcitabina, docetaxel, doxorubicina) e outros agentes (erlotinibe ou lapatinibe), podendo ser indicado como AZD5363 para o tratamento de tumores com mutação em *PIK3CA*, *RAS* ou *PTEN* (56–58). AZD5363 também tem potencial para superar a resistência ou aumentar a sensibilidade aos inibidores de HER2 no câncer de mama, e sensibilizar relevantemente a quimioterapia com docetaxel, resultando em regressão tumoral *in vivo* (57). Ao inibir autofagia farmacologicamente (3-MA, CQ e Baf-A1) ou por supressão genética (siRNA direcionados a *ATG3* e *ATG7*) AZD5363 promove aumento de morte tumoral (59,60).

Os inibidores de PI3K foram considerados alvos terapêuticos atraentes, principalmente no caso de expressão aberrante de PI3K/PTEN. O inibidor da p110 $\delta$  (CAL-101) induz efeitos citotóxicos associados à autofagia e, quando combinado ao bortezomibe, aumenta sinergicamente a morte celular de tumores (61). Entre a classe dos inibidores de PI3K Pan-classe I, muitos deles apresentam efeitos inibitórios potentes na via de sinalização PI3K/AKT (Figura 4) (61–69). A autofagia ativada por BKM120 quando inibida por CQ, Baf-A1 e 3-MA resulta em diminuição adicional da proliferação celular (63). Paradoxalmente, a autofagia associada à regulação positiva do receptor à insulina (IGF1R), desempenha um papel na resistência a GDC-0032 (68). Os ensaios pré-clínicos *in vitro* com inibidores duplos de PI3K/mTORC1 sugerem uma eficácia mais ampla em comparação com agentes direcionados a apenas um componente da via (40,70). De fato, comparado a everolimo e a PP242, BEZ235 pode reduzir acentuadamente a proliferação de células tumorais do cólon (70).

Metformina, medicamento aprovado pelo FDA para tratar o diabetes mellitus tipo 2, ativa a autofagia via AMPK com conseqüente supressão da proliferação tumoral (71), associada à indução de mitofagia e diminuição da geração de ATP dependente de mitocôndrias (72).

Vorinostat é um inibidor de histona desacetilase (classe I, II e IV) capaz de ativar autofagia através da regulação negativa da sinalização AKT/mTORC1 e indução da resposta ao estresse do RE (73), mas cujos efeitos biológicos podem ser antagonizados pelo inibidor da autofagia 3-MA em condrosarcomas (74). Em coadministração com olaparibe, um inibidor da polimerase da poli ADP ribose (PARP), vorinostat inibe sinergicamente o crescimento de células tumorais de mama triplo-



negativas através do aumento da morte celular apoptótica em associação à autofagia (75). Nas células de câncer de mama MCF-7 resistentes ao tamoxifeno, o inibidor sintético de histona desacetilase, MHY218, induz apoptose ou morte celular relacionada à autofagia (76). Recentemente, estudos têm apontado para a acetilação do fator de transcrição TFEB considerado um regulador mestre da biogênese e função lisossômica, e autofagia. Sabe-se que sua atividade transcricional é controlada principalmente por seu status de fosforilação mediado por mTORC1. No entanto, vorinostat pode ativar a função lisossômica em células tumorais humanas de forma independente de mTORC1 (77). Já, raloxifeno, um antagonista do receptor de estrogênio, pode induzir a autofagia por meio da ativação da AMPK, detectando reduções no ATP, levando à morte celular não apoptótica associada à autofagia no câncer de mama (78).

## CONCLUSÃO

A autofagia é um processo celular complexo e fundamental que demonstrou desempenhar um papel duplo na sobrevivência e morte celular em ambos tecidos, saudáveis ou neoplásicos, e por esta razão tornou-se um alvo relevante para o direcionamento de estratégias terapêuticas para o tratamento de diversos cânceres. Ainda há opiniões divergentes quanto à abordagem da modulação da autofagia no âmbito clínico, ou seja, há aqueles que defendem a inibição como melhor estratégia, enquanto outros acreditam que ativá-la é a melhor opção. Entretanto, vale lembrar que o câncer é uma patologia bastante complexa e heterogênea, não havendo apenas um modo de intervir em função da sua erradicação. O que vale para o uso da modulação da autofagia no câncer, pois por possuir papel ambíguo na biologia tumoral, é extremamente dependente de contexto. Ou seja, é importante avaliar o tipo e estágio tumoral, além de seus biomarcadores, para traçar uma melhor estratégia de acordo com suas características. Assim, obter um tratamento responsivo e eficaz, o que justifica o crescimento constante do diagnóstico e terapia personalizada na oncologia. A consideração de dados personalizados que relatam quantitativa e precisamente a autofagia e o metabolismo do tumor, bem como as propriedades de apoptose e resistência, serão pontos cruciais que podem permitir uma estratégia terapêutica mais eficaz e preditiva para o tratamento do câncer, tendo alvo a autofagia.

## REFERÊNCIAS

1. Galluzzi L, Baehrecke EH, Ballabio A, Boya P, Bravo-San Pedro JM, Cecconi F, et al. Molecular definitions of autophagy and related processes. *EMBO J.* 2017;36(13):1811–36.



2. Saha S, Panigrahi DP, Patil S, Bhutia SK. Autophagy in health and disease: A comprehensive review. *Biomed Pharmacother.* 2018;104(February):485–95.
3. Yu L, Chen Y, Tooze SA. Autophagy pathway: Cellular and molecular mechanisms. *Autophagy.* 2018;14(2):207–15.
4. Nakamura S, Yoshimori T. New insights into autophagosome–lysosome fusion. *J Cell Sci.* 2017 Apr 1;130(7):1209–16.
5. Antonioli M, Di Rienzo M, Piacentini M, Fimia GM. Emerging Mechanisms in Initiating and Terminating Autophagy. *Trends Biochem Sci.* 2017 Jan;42(1):28–41.
6. Galluzzi L, Bravo-San Pedro JM, Levine B, Green DR, Kroemer G. Pharmacological modulation of autophagy: Therapeutic potential and persisting obstacles. *Nat Rev Drug Discov.* 2017;16(7):487–511.
7. Huang T, Song X, Yang Y, Wan X, Alvarez AA, Sastry N, et al. Autophagy and Hallmarks of Cancer. *Crit Rev Oncog.* 2018 Jun 21;23(5–6):247–67.
8. Chude CI, Amaravadi RK. Targeting Autophagy in Cancer: Update on Clinical Trials and Novel Inhibitors. *Int J Mol Sci.* 2017 Jun 16;18(6):1279.
9. Wilde L, Tanson K, Curry J, Martinez-Outschoorn U. Autophagy in cancer: A complex relationship. *Biochem J.* 2018;475(11):1939–54.
10. Martins WK, Baptista MS. Autophagy Modulation for Organelle-Targeting Autophagy Modulation for Organelle-Targeting Therapy. In: *Autophagy in Current Trends in Cellular Physiology and Pathology.* 2016. p. 350–90.
11. Marinković M, Šprung M, Buljubašić M, Novak I. Autophagy modulation in cancer: Current knowledge on action and therapy. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;2018.
12. Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, Abrams JM, Adam D, Agostinis P, et al. Molecular mechanisms of cell death: Recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ.* 2018;25(3):486–541.
13. Yang Y, Yu L, Li J, Yuan YH, Wang XL, Yan SR, et al. Autophagy regulates the stemness of cervical cancer stem cells. *Biol Targets Ther.* 2017 Jun;Volume 11:71–9.
14. Peng Q, Qin J, Zhang Y, Cheng X, Wang X, Lu W, et al. Autophagy maintains the stemness of ovarian cancer stem cells by FOXA2. *J Exp Clin Cancer Res.* 2017 Dec;36(1):171.
15. Zhao JX, Liu H, Lv J, Yang XJ. Wortmannin enhances cisplatin-induced apoptosis in human ovarian cancer cells in vitro. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2014;18(17):2428–34.
16. Yang YP, Hu LF, Zheng HF, Mao CJ, Hu WD, Xiong KP, et al. Application and interpretation of current autophagy inhibitors and activators. Vol. 34, *Acta Pharmacologica Sinica.* Nature Publishing Group; 2013. p. 625–35.



17. Bhat P, Kriel J, Shubha Priya B, Basappa, Shivananju NS, Loos B. Modulating autophagy in cancer therapy: Advancements and challenges for cancer cell death sensitization. *Biochem Pharmacol.* 2018;147:170–82.
18. McAfee Q, Zhang Z, Samanta A, Levi SM, Ma XH, Piao S, et al. Autophagy inhibitor Lys05 has single-agent antitumor activity and reproduces the phenotype of a genetic autophagy deficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(21):8253–8.
19. Takeuchi H, Kondo Y, Fujiwara K, Kanzawa T, Aoki H, Mills GB, et al. Synergistic augmentation of rapamycin-induced autophagy in malignant glioma cells by phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B inhibitors. *Cancer Res.* 2005 May 15;65(8):3336–46.
20. Martins WK, Costa ÉT, Cruz MC, Stolf BS, Miotto R, Cordeiro RM, et al. Parallel damage in mitochondrial and lysosomal compartments promotes efficient cell death with autophagy: The case of the pentacyclic triterpenoids. *Sci Rep.* 2015 Dec 27;5(1):12425.
21. Martins WK, Gomide AB, Costa ÉT, Junqueira HC, Stolf BS, Itri R, et al. Membrane damage by betulinic acid provides insights into cellular aging. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj.* 2017 Jan;1861(1):3129–43.
22. Yamamoto a, Tagawa Y, Yoshimori T, Moriyama Y, Masaki R, Tashiro Y. Bafilomycin A1 prevents maturation of autophagic vacuoles by inhibiting fusion between autophagosomes and lysosomes in rat hepatoma cell line, H-4-II-E cells. *Cell Struct Funct.* 1998;23(1):33–42.
23. Ahlberg J, Berkenstam A, Henell F, Glaumann H. Degradation of short and long lived proteins in isolated rat liver lysosomes. Effects of pH, temperature, and proteolytic inhibitors. *J Biol Chem.* 1985;260(9):5847–54.
24. Seglen PO, Grinde B, Solheim a E. Inhibition of the lysosomal pathway of protein degradation in isolated rat hepatocytes by ammonia, methylamine, chloroquine and leupeptin. *Eur J Biochem.* 1979 Apr 2;95(2):215–25.
25. Yoshimori T, Yamamoto A, Moriyama Y, Futai M, Tashiro Y. Bafilomycin A1, a specific inhibitor of vacuolar-type H<sup>+</sup>-ATPase, inhibits acidification and protein degradation in lysosomes of cultured cells. *J Biol Chem.* 1991;266(26):17707–12.
26. Solomon VR, Lee H. Chloroquine and its analogs: A new promise of an old drug for effective and safe cancer therapies. *Eur J Pharmacol.* 2009;625(1–3):220–33.
27. Maycotte P, Aryal S, Cummings CT, Thorburn J, Morgan MJ, Thorburn A. Chloroquine sensitizes breast cancer cells to chemotherapy independent of autophagy. *Autophagy.* 2012;8(2):200–12.
28. Choi J-H, Yoon JS, Won Y-W, Park B-B, Lee YY. Chloroquine enhances the chemotherapeutic activity of 5-fluorouracil in a colon cancer cell line via cell cycle alteration. *APMIS.* 2012 Jul;120(7):597–604.



29. Zanotto-Filho A, Braganhol E, Klafke K, Figueiró F, Terra SR, Paludo FJ, et al. Autophagy inhibition improves the efficacy of curcumin/temozolomide combination therapy in glioblastomas. *Cancer Lett.* 2015 Mar;358(2):220–31.
30. Mauthe M, Orhon I, Rocchi C, Zhou X, Luhr M, Hijlkema K-J, et al. Chloroquine inhibits autophagic flux by decreasing autophagosome-lysosome fusion. *Autophagy.* 2018;0(0):15548627.2018.1474314.
31. Kimura T, Takabatake Y, Takahashi A, Isaka Y. Chloroquine in cancer therapy: A double-edged sword of autophagy. *Cancer Res.* 2013;73(1):3–7.
32. Tsubone TM, Rocha CS, II-sei W, Stolf BS, Baptista MS MW. In vitro Autophagy Modulation with Chloroquine: Some Lessons to Learn. *Adv Biochem Biotechnol.* 2020;5(1098).
33. Mauvezin C, Nagy P, Juhász G, Neufeld TP. Autophagosome–lysosome fusion is independent of V-ATPase-mediated acidification. *Nat Commun.* 2015;6(May):7007.
34. Klionsky DJ, Elazar Z, Seglen PO, Rubinsztein DC. Does bafilomycin A1 block the fusion of autophagosomes with lysosomes? *Autophagy.* 2008;4(7):849–50.
35. Nikolettópoulou V, Markaki M, Palikaras K, Tavernarakis N. Crosstalk between apoptosis, necrosis and autophagy. Vol. 1833, *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research.* 2013. p. 3448–59.
36. Codogno P, Meijer AJ. Autophagy and signaling: their role in cell survival and cell death. *Cell Death Differ.* 2005;12:1509–18.
37. Muñoz-Pinedo C, Martin SJ. Autosis: A new addition to the cell death tower of babel. Vol. 5, *Cell Death and Disease.* 2014. p. e1319–e1319.
38. Chen Y, McMillan-Ward E, Kong J, Israels SJ, Gibson SB. Oxidative stress induces autophagic cell death independent of apoptosis in transformed and cancer cells. *Cell Death Differ.* 2008;15(1):171–82.
39. Ginet V, Puyal J, Rummel C, Aubry D, Breton C, Cloux AJ, et al. A critical role of autophagy in antileukemia/lymphoma effects of APO866, an inhibitor of NAD biosynthesis. *Autophagy.* 2014;10(4):603–17.
40. Dienstmann R, Rodon J, Serra V, Tabernero J. Picking the point of inhibition: A comparative review of PI3K/AKT/mTOR pathway inhibitors. *Mol Cancer Ther.* 2014;13(5):1021–31.
41. Cicchini M, Karantza V, Xia B. Molecular Pathways: Autophagy in Cancer—A Matter of Timing and Context. *Clin Cancer Res.* 2015 Feb;21(3):498–504.
42. Chang SB, Miron P, Miron A, Iglehart JD. Rapamycin Inhibits Proliferation of Estrogen-Receptor-Positive Breast Cancer Cells. *J Surg Res.* 2007;138(1):37–44.
43. Rangwala R, Chang YC, Hu J, Algazy KM, Evans TL, Fecher LA, et al. Combined MTOR



and autophagy inhibition. *Autophagy*. 2014 Aug 20;10(8):1391–402.

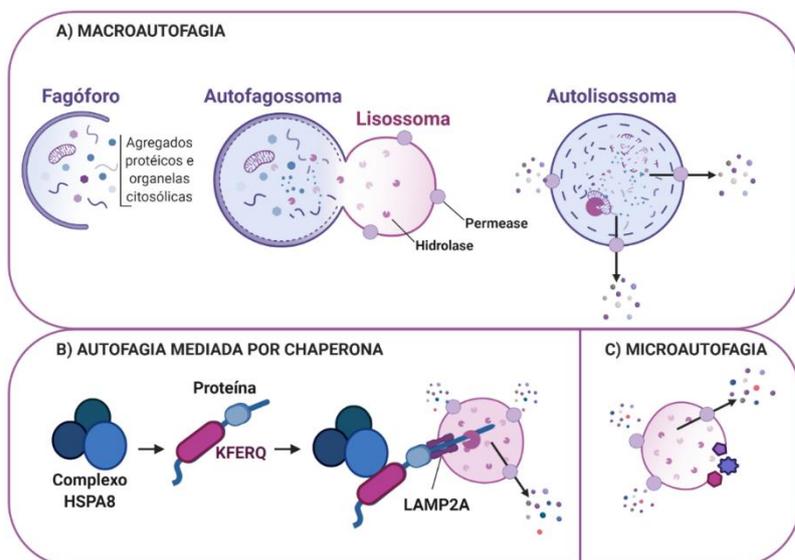
44. Crazzolara R, Cisterne A, Thien M, Hewson J, Baraz R, Bradstock KF, et al. Potentiating effects of RAD001 (Everolimus) on vincristine therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2009;113(14):3297–306.
45. Yu K, Shi C, Toral-Barza L, Lucas J, Shor B, Kim JE, et al. Beyond rapalog therapy: preclinical pharmacology and antitumor activity of WYE-125132, an ATP-competitive and specific inhibitor of mTORC1 and mTORC2. *Cancer Res*. 2010;70(2):621–31.
46. Zhang D, Xia H, Zhang W, Fang B. The anti-ovarian cancer activity by WYE-132, a mTORC1/2 dual inhibitor. *Tumor Biol*. 2016;37(1):1327–36.
47. Chresta CM, Davies BR, Hickson I, Harding T, Cosulich S, Critchlow SE, et al. AZD8055 Is a Potent, Selective, and Orally Bioavailable ATP-Competitive Mammalian Target of Rapamycin Kinase Inhibitor with In vitro and In vivo Antitumor Activity. *Cancer Res*. 2010 Jan 1;70(1):288–98.
48. Hsieh AC, Costa M, Zollo O, Davis C, Feldman ME, Testa JR, et al. Genetic Dissection of the Oncogenic mTOR Pathway Reveals Druggable Addiction to Translational Control via 4EBP-eIF4E. *Cancer Cell*. 2010 Mar;17(3):249–61.
49. Feldman ME, Apsel B, Uotila A, Loewith R, Knight ZA, Ruggero D, et al. Active-Site Inhibitors of mTOR Target Rapamycin-Resistant Outputs of mTORC1 and mTORC2. *PLoS Biol*. 2009;7(2):e38.
50. Milošević Z, Banković J, Dinić J, Tsimplouli C, Sereti E, Dragoj M, et al. Potential of the dual mTOR kinase inhibitor AZD2014 to overcome paclitaxel resistance in anaplastic thyroid carcinoma. *Cell Oncol*. 2018;41(4):409–26.
51. Caro-Vegas C, Bailey A, Bigi R, Damania B, Dittmer DP. Targeting mTOR with MLN0128 Overcomes Rapamycin and Chemoresistant Primary Effusion Lymphoma. *Shenk T, editor. MBio*. 2019 Feb 19;10(1):1–13.
52. Zhang H, Berel D, Wang Y, Li P, Bhowmick NA, Figlin RA, et al. A comparison of Ku0063794, a dual mTORC1 and mTORC2 inhibitor, and temsirolimus in preclinical renal cell carcinoma models. *PLoS One*. 2013;8(1):e54918.
53. Kaley TJ, Panageas KS, Mellinghoff IK, Nolan C, Gavrilovic IT, DeAngelis LM, et al. Phase II trial of an AKT inhibitor (perifosine) for recurrent glioblastoma. *J Neurooncol*. 2019;144(2):403–7.
54. Pitter KL, Galbán CJ, Galbán S, Saeed-Tehrani O, Li F, Charles N, et al. Perifosine and CCI 779 co-operate to induce cell death and decrease proliferation in PTEN-intact and PTEN-Deficient PDGF-driven murine glioblastoma. *PLoS One*. 2011;6(1):1–11.
55. Becher OJ, Gilheaney SW, Khakoo Y, Lyden DC, Haque S, De Braganca KC, et al. A phase I study of perifosine with temsirolimus for recurrent pediatric solid tumors. *Pediatr Blood Cancer*. 2017;64(7):1–9.



56. Hirai H, Sootome H, Nakatsuru Y, Miyama K, Taguchi S, Tsujioka K, et al. MK-2206, an allosteric akt inhibitor, enhances antitumor efficacy by standard chemotherapeutic agents or molecular targeted drugs in vitro and in vivo. *Mol Cancer Ther.* 2010;9(7):1956–67.
57. Davies BR, Greenwood H, Dudley P, Crafter C, Yu DH, Zhang J, et al. Preclinical pharmacology of AZD5363, an inhibitor of AKT: Pharmacodynamics, antitumor activity, and correlation of monotherapy activity with genetic background. *Mol Cancer Ther.* 2012;11(4):873–87.
58. Sangai T, Akcakanat A, Chen H, Tarco E, Wu Y, Do KA, et al. Biomarkers of response to Akt inhibitor MK-2206 in breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2012;18(20):5816–28.
59. Lamoureux F, Thomas C, Crafter C, Kumano M, Zhang F, Davies BR, et al. Blocked autophagy using lysosomotropic agents sensitizes resistant prostate tumor cells to the novel Akt inhibitor AZD5363. *Clin Cancer Res.* 2013;19(4):833–44.
60. Lamoureux F, Zoubeidi A. Dual inhibition of autophagy and the AKT pathway in prostate cancer. *Autophagy.* 2013;9(7):1119–20.
61. Ikeda H, Hideshima T, Fulciniti M, Perrone G, Miura N, Yasui H, et al. PI3K/p110 $\delta$  is a novel therapeutic target in multiple myeloma. *Blood.* 2010;116(9):1460–8.
62. Pereira JKN, Machado-Neto JA, Lopes MR, Morini BC, Traina F, Costa FF, et al. Molecular effects of the phosphatidylinositol-3-kinase inhibitor NVP-BKM120 on T and B-cell acute lymphoblastic leukaemia. *Eur J Cancer.* 2015;51(14):2076–85.
63. Zang C, Eucker J, Liu H, Coordes A, Lenarz M, Possinger K, et al. Inhibition of pan-class I phosphatidyl-inositol-3-kinase by NVP-BKM120 effectively blocks proliferation and induces cell death in diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma.* 2014;55(2):425–34.
64. Kong D, Yamori T, Yamazaki K, Dan S. In vitro multifaceted activities of a specific group of novel phosphatidylinositol 3-kinase inhibitors on hotspot mutant PIK3CA. *Invest New Drugs.* 2014;32(6):1134–43.
65. Enzenmüller S, Gonzalez P, Karpel-Massler G, Debatin KM, Fulda S. GDC-0941 enhances the lysosomal compartment via TFEB and primes glioblastoma cells to lysosomal membrane permeabilization and cell death. *Cancer Lett.* 2013;329(1):27–36.
66. Koul D, Shen R, Kim YW, Kondo Y, Lu Y, Bankson J, et al. Cellular and in vivo activity of a novel PI3K inhibitor, PX-866, against human glioblastoma. *Neuro Oncol.* 2010;12(6):559–69.
67. Kuo W-L, Sharifi MN, Lingen MW, Ahmed O, Liu J, Nagilla M, et al. p62/SQSTM1 Accumulation in Squamous Cell Carcinoma of Head and Neck Predicts Sensitivity to Phosphatidylinositol 3-Kinase Pathway Inhibitors. *Califano JA, editor. PLoS One.* 2014 Mar 5;9(3):e90171.
68. Zorea J, Prasad M, Cohen L, Li N, Schefzik R, Ghosh S, et al. IGF1R upregulation confers resistance to isoform-specific inhibitors of PI3K in PIK3CA-driven ovarian cancer. *Cell Death Dis.* 2018;9(10).



69. Ndubaku CO, Heffron TP, Staben ST, Baumgardner M, Blaquiére N, Bradley E, et al. Discovery of 2-{3-[2-(1-isopropyl-3-methyl-1H-1,2,4-triazol-5-yl)-5,6-dihydrobenzo[f]imidazo[1,2-d][1,4]oxazepin-9-yl]-1H-pyrazol-1-yl}-2-methylpropanamide (GDC-0032): A  $\beta$ -sparing phosphoinositide 3-kinase inhibitor with high unbound exposure and robu. *J Med Chem.* 2013;56(11):4597–610.
70. Alqurashi N, Hashimi SM, Alowaidi F, Ivanovski S, Wei MQ. Dual mTOR/PI3K inhibitor NVP-BEZ235 arrests colorectal cancer cell growth and displays differential inhibition of 4E-BP1. *Oncol Rep.* 2018;40(2):1083–92.
71. Saha A, Blando J, Tremmel L, DiGiovanni J. Effect of metformin, rapamycin, and their combination on growth and progression of prostate tumors in HiMyc mice. *Cancer Prev Res.* 2015;8(7):597–606.
72. Sesen J, Dahan P, Scotland SJ, Saland E, Dang V-T, Lemarié A, et al. Metformin Inhibits Growth of Human Glioblastoma Cells and Enhances Therapeutic Response. Alonso MM, editor. *PLoS One.* 2015 Apr;10(4):e0123721.
73. Liu Y-L, Yang P-M, Shun C-T, Wu M-S, Weng J-R, Chen C-C. Autophagy potentiates the anti-cancer effects of the histone deacetylase inhibitors in hepatocellular carcinoma. *Autophagy.* 2010 Nov;6(8):1057–65.
74. Yamamoto S, Tanaka K, Sakimura R, Okada T, Nakamura T, Li Y, et al. Suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) induces apoptosis or autophagy-associated cell death in chondrosarcoma cell lines. *Anticancer Res.* 2008;28(3 A):1585–91.
75. Min A, Im S-A, Kim DK, Song S-H, Kim H-J, Lee K-H, et al. Histone deacetylase inhibitor, suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA), enhances anti-tumor effects of the poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitor olaparib in triple-negative breast cancer cells. *Breast Cancer Res.* 2015;17(1):33.
76. Park JH, Ahn MY, Kim TH, Yoon S, Kang KW, Lee J, et al. A new synthetic HDAC inhibitor, MHY218, induces apoptosis or autophagy-related cell death in tamoxifen-resistant MCF-7 breast cancer cells. *Invest New Drugs.* 2012 Oct;30(5):1887–98.
77. Zhang J, Wang J, Zhou Z, Park J-E, Wang L, Wu S, et al. Importance of TFEB acetylation in control of its transcriptional activity and lysosomal function in response to histone deacetylase inhibitors. *Autophagy.* 2018 Jul 30;14(6):1–17.
78. Kim DE, Kim Y, Cho DH, Jeong SY, Kim SB, Suh N, et al. Raloxifene induces autophagy-dependent cell death in breast cancer cells via the activation of amp-activated protein kinase. *Mol Cells.* 2015;38(2):138–44.

**FIGURAS**

**Figura 1 - Tipos de autofagia em mamíferos.** A iniciação da macroautofagia ocorre em resposta ao estresse celular. O fagóforo nucleia e se expande para seqüestrar organelas e macromoléculas indesejadas e forma uma estrutura de membrana dupla denominada autofagossoma. A membrana externa do autofagossoma se funde com um lisossoma para entregar a carga ao autolisossoma recém-formado para degradação. Os produtos de digestão são posteriormente reciclados após a liberação através da permease presente na membrana do lisossoma/autolisossoma (A). Na autofagia mediada pela chaperona, as proteínas citosólicas com um motivo KFERQ são primeiro reconhecidas pelo HSPA8. O complexo substrato-acompanhante se liga a um monômero LAMP2A. Posteriormente, a translocação do substrato ocorre através do *unfolding* do substrato e da multimerização do LAMP2A. Eventualmente, os substratos são degradados nos lisossomas e os produtos resultantes são reutilizados na célula (B). A microautofagia transporta material citosólico para dentro do lisossoma através da invaginação direta ou protrusão da membrana lisossômica (C).

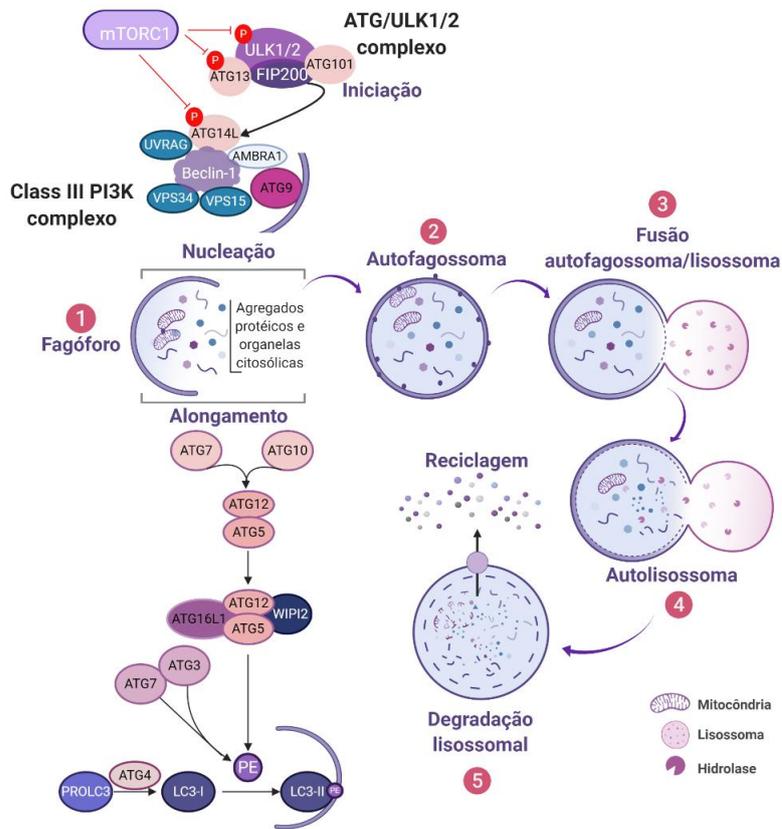
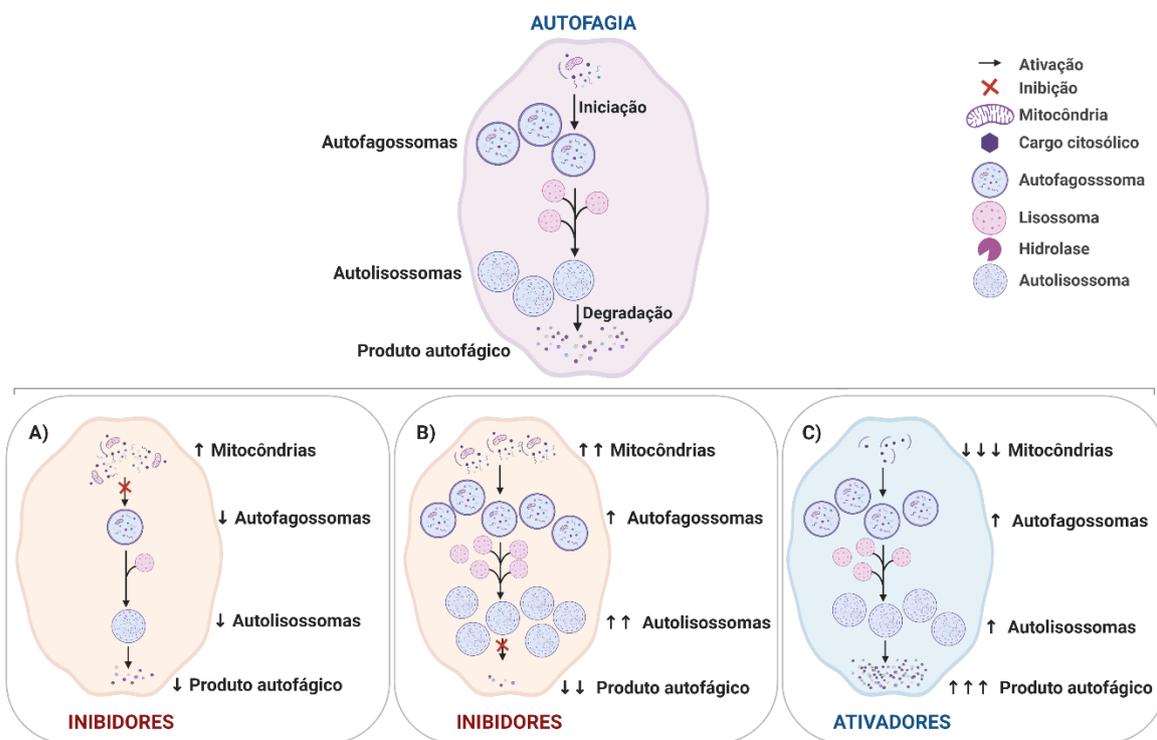
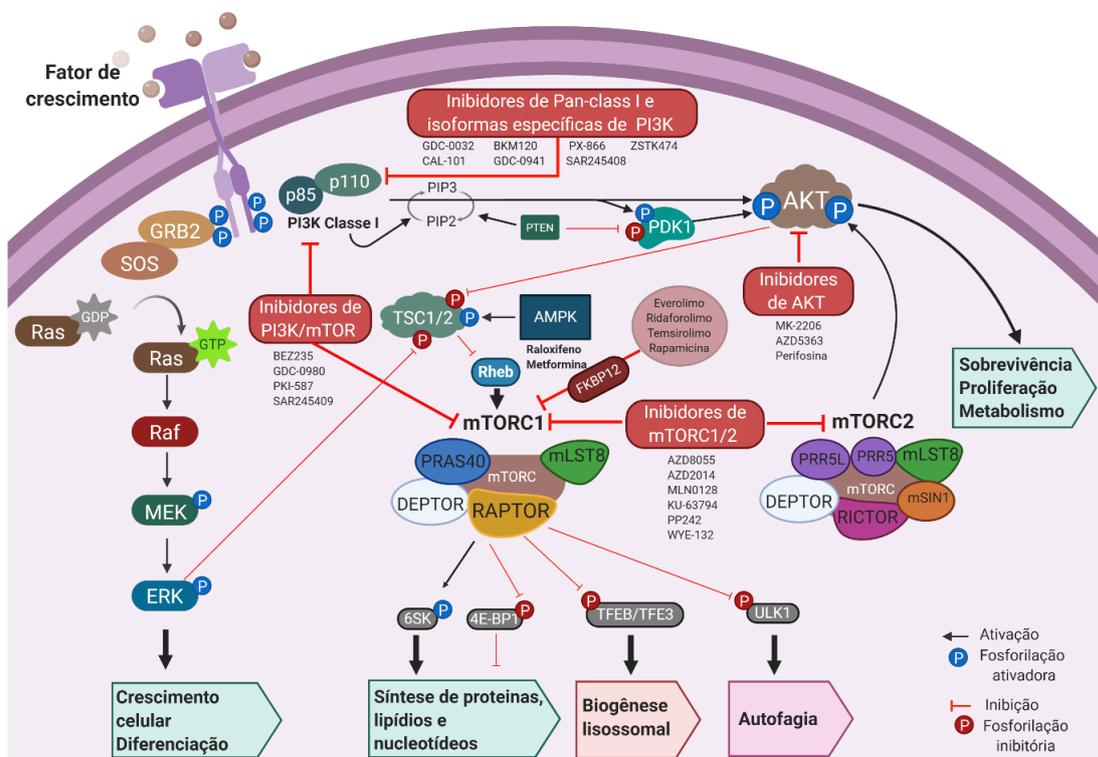


Figura 2 - Via de autofagia em células de mamíferos.



**Figura 3 - Princípios da modulação da autofagia.** Quando a autofagia contribui mecanisticamente para a etiologia da doença, tal como ocorre em tumores avançados e metastáticos, espera-se que a inibição da iniciação da mitofagia pró-sobrevida frente a um estresse extrínseco (radiação, quimioterapia ou terapia fotodinâmica) em células tumorais (A) comprometa a degradação autofágica e medie os efeitos terapêuticos, enquanto o bloqueio da degradação lisossômica favoreça um acúmulo prejudicial de autofagossomas e autolisossomas não-funcionais (B). Por outro lado, ao ativar o fluxo autofágico tumoral já considerado elevado frente ao estresse celular, poderá haver desregulação associada à morte (C).



**Figura 4: Visão geral da via PI3K/AKT/mTOR e medicamentos moduladores.** Meios de ativação (PI3K, AKT, ERK, PDK1 e Rheb) e reguladores negativos (complexo AMPK, PTEN, TSC1/2) são realçados. Os fatores de crescimento (incluindo hormônios, citocinas e quimiocinas) ativam os receptores tirosina-cinases ou receptores acoplados à proteína G, que, através de vários mecanismos, ativam PI3K/AKT. Quando ativo, o AKT fosforila e inibe o complexo TSC, aliviando a inibição do Rheb, e permitindo que ele seja ativado e estimule a atividade da mTORC1 quinase. mTORC1 contém mTOR, RAPTOR, mLST8, PRAS40 e DEPTOR. São apresentados os principais sinalizadores de mTORC1, incluindo reguladores a montante que integram o fator de crescimento e os principais efetores a jusante que mediam os efeitos do mTORC1 na síntese protéica, lipídica e nucleotídica, na biogênese lisossomal e autofagia. Diferente do mTORC1, o mTORC2 contém suas subunidades distintas RICTOR, PRR5L, PRR5 e mSIN1, bem como a subunidade comum mLST8 e DEPTOR. Os principais inibidores a montante na sinalização mTORC1/2 são mostrados. As proteínas mostradas na figura não são desenhadas em escala.