



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
Campus SOBRAL
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

LARISSE DA COSTA CARVALHO

**ESTUDO IMUNOMOLECULAR DO PAPEL DA AUTOFAGIA CELULAR E DO
GENE SUPRESSOR PTEN NO PROCESSO DE MALIGNIZAÇÃO DO CÂNCER DE
CAVIDADE ORAL E DE LÁBIO**

Sobral – CE

2023

LARISSE DA COSTA CARVALHO

**ESTUDO IMUNOMOLECULAR DO PAPEL DA AUTOFAGIA CELULAR E DO
GENE SUPRESSOR PTEN NO PROCESSO DE MALIGNIZAÇÃO DO CANCER DE
CAVIDADE ORAL E DE LÁBIO**

Trabalho de Conclusão de Curso do Curso de Graduação em Odontologia pela Universidade Federal do Ceará– Campus Sobral como requisito para obtenção do título de Cirurgião-Dentista.

Orientador: Prof. Dr. Filipe Nobre Chaves

SOBRAL-CE

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C325e Carvalho, Larisse da Costa.

Estudo imunomolecular do papel da autofagia celular e do gene supressor PTEN no processo de malignização do câncer de cavidade oral e lábio. / Larisse da Costa Carvalho. – 2023.

34 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral,
Curso de Odontologia, Sobral, 2023.

Orientação: Prof. Dr. Filipe Nobre Chaves.

1. Autofagia. 2. Neoplasias Bucais. 3. Polimorfismo de Nucleotídeo Único. I. Título.

CDD 617.6

LARISSE DA COSTA CARVALHO

**ESTUDO IMUNOMOLECULAR DO PAPEL DA AUTOFAGIA CELULAR E DO
GENE SUPRESSOR PTEN NO PROCESSO DE MALIGNIZAÇÃO DO CANCER DE
CAVIDADE ORAL E DE LÁBIO**

Trabalho de Conclusão de Curso do Curso de Graduação em Odontologia pela Universidade Federal do Ceará– Campus Sobral como requisito para obtenção do título de Cirurgião-Dentista.

Aprovado em 28/02/2023

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Filipe Nobre Chaves (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra Denise Imaculada Pereira Oliveira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Marcelo Bonifácio da Silva Sampieri
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Jefferson Douglas Lima Fernandes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, familiares, amigos e professores.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Ceará (UFC) e à Diretoria do Campus de Sobral pela oportunidade de realizar a graduação em Odontologia com acesso formação humana e embasada por aspectos técnico-científicos de qualidade.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pela oportunidade do financiamento da pesquisa através da Bolsa de Iniciação Científica integrante da Bolsa de Produtividade em Pesquisa, Estímulo à Interiorização e à Inovação Tecnológica (BPI)

Ao Grupo de Estudos em Estomatologia e Patologia Oral de Sobral (GEEPOS) e a Liga de Anatomia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial de Sobral (LATIUM) que me permitiram novas experiências ao longo da graduação.

À minha família, em especial meus pais Raimundo e Vilanir e as minhas tias que tão carinhosamente me incentivam, me apoiam e cuidam de mim. Na loteria da vida, eu ganhei mil vezes por tê-los comigo.

Aos meus professores, que me deram muitas oportunidades de crescimento e me ensinaram não só a parte técnica do curso, mas também como ser um profissional de excelência e, antes de tudo, preocupado com a saúde do próximo.

Ao meu querido orientador, Prof. Dr. Filipe Nobre Chaves que meu levou sob sua asa desde o meu primeiro ano e continuou comigo até o presente momento.

Aos meus colegas de turma da T13, que me confortaram e me deram força nos momentos de dificuldade. Em especial minha dupla Juliane, minha colega de apartamento Janine e minhas companheiras de projeto Lara e Mirlyn, assim como nossos respectivos grupos de maior afinidade.

Aos meus pacientes, que depositaram sua confiança em mim.

À toda equipe de funcionários e servidores, pois me auxiliaram durante toda a graduação.

RESUMO

O câncer de boca é um conjunto de neoplasias malignas que afetam vários sítios anatômicos na região da cabeça e do pescoço. Atualmente, o Brasil apresenta a maior taxa de incidência da América do Sul e a segunda maior taxa de mortalidade. O consumo de tabaco e álcool são os fatores de risco mais clássicos associados ao seu desenvolvimento, no entanto, alguns estudos mostraram que fatores genéticos podem contribuir nesse processo, dentre eles, a via autofágica tem sido alvo de estudos por indicarem ter um envolvimento de efeito duplo, tanto na tumorigênese, quanto na atividade de supressão tumoral. Dito isso, o gene *ATG6L1* foi o que mais pareceu estar envolvido nesse processo de carcinogênese. O objetivo do trabalho foi analisar variantes genéticas relacionadas à autofagia celular que influenciam a uma maior suscetibilidade às neoplasias malignas de região de cabeça e pescoço. Trata-se de uma revisão de literatura integrativa acerca do câncer bucal. Para elaboração da pesquisa foi realizada a busca na base de dados PUBMED utilizando-se a combinação de descritores controlados, cadastrados no Medical Subject Headings (*MeSH*): *autophagy cancer, oral cancer, polymorphisms, ATG16L01*. Os critérios de inclusão foram estudos primários sobre CCP; estudos disponíveis na íntegra. Como critério de exclusão definiu-se artigos repetidos nas bases de dados; artigos de opinião; artigos de reflexão e editoriais. Foram selecionados 5 artigos, entretanto 3 artigos seguiram os critérios de inclusão e exclusão. Destes trabalhos, os que utilizaram a técnica de isolamento e genotipagem dos genes relacionados com a formação do autofagossomo mostraram que o gene *ATG10* rs1864183 pode estar relacionado com uma maior suscetibilidade para o desenvolvimento do câncer de laringe, o *ATG2B* rs3759601 com o câncer de faringe e *ATG16L1* rs2241880 com carcinoma oral. Já o rs26537 de *ATG12* foram significativamente associados ao aumento do risco de câncer de cabeça e pescoço e achados sugerem que o mesmo está intimamente associado ao desenvolvimento e progressão maligna. Um estudo buscou associar a expressão imuno-histoquímica de *ATG16L* em carcinoma de células escamosas orais, observando que uma superexpressão foi significativamente associada ao estágio da doença, tamanho do tumor, metástase linfonodal e grau histológico, bem como influenciou a sobrevida global e o tempo de recorrência de pacientes. Logo, observa-se a importância da via autofágica na suscetibilidade do carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço, mas o mecanismo molecular exato na etiologia desta neoplasia ainda não foi

investigado. Para isso, estudos são necessários para confirmar as descobertas e mapear os tais mecanismos moleculares a fim de permitir intervenções precoces e até mesmo o desenvolvimento de medicamentos que venham a interferir nessas vias.

Palavras chaves: Autofagia; Neoplasias Bucais; Polimorfismo de Nucleotídeo Único.

SUMÁRIO

1. REVISÃO DE LITERATURA	10
1.1 Via de sinalização PI3K/AKT/mTOR e o gene PTEN.....	11
1.2 Hipóxia e o fator de transcrição Fator Induzido por Hipóxia (HIF-1 α)	13
1.3 Via autofágica e o complexo ATG-5-ATG12-ATG16	14
2. CAPÍTULO ÚNICO	18
3. CONCLUSÃO GERAL	29
REFERÊNCIAS	30
ANEXO – NORMAS DA REVISTA PARA SUBMISSÃO DO ARTIGO	34

1. REVISÃO DE LITERATURA

O câncer é um problema de saúde pública mundial, apresentando uma alta incidência e elevado índice de mortalidade (DANTAS et al., 2016). O câncer de cavidade oral faz parte do conjunto de tumores que afetam a cabeça e o pescoço. Foram estimados cerca de 300 mil casos novos no mundo em 2012, sendo que, desses, aproximadamente dois terços são no sexo masculino. Para a mortalidade, foram estimados 145 mil óbitos por câncer no mundo, em 2012, com cerca de 80% ocorrendo em regiões menos favorecidas (INCA, 2016). O câncer oral possui a 6^a maior taxa de mortalidade dentre os cânceres humanos, sendo o carcinoma epidermoide oral (CEO) o subtipo mais frequente (LIU et al., 2012; DANTAS et al., 2016). Estimam-se, para o Brasil, no ano de 2016, 11.140 casos novos de câncer da cavidade oral (incluindo lábio, cavidade bucal e orofaringe) em homens e 4.350 em mulheres. Tais valores correspondem a um risco estimado de 11,27 casos novos a cada 100 mil homens e 4,21 a cada 100 mil mulheres. Sem considerar os tumores de pele não melanoma, o câncer de esôfago em homens é o quinto mais frequente na Região Sul (16,86/100 mil). Na Região Centro-Oeste (7,43/ 100 mil), ocupa a sexta posição. Nas Regiões Sudeste (8,40/ 100 mil) e Nordeste (4,91/100 mil), ocupa a sétima posição. E, na Região Norte (2,20/100 mil), é o 11º mais frequente. Para as mulheres, é o 11º mais frequente na Região Sul (5,34/100 mil) e ocupa a 13^a posição nas Regiões Sudeste (2,99/100 mil) e Nordeste (1,84/100 mil). Na Região Norte (0,73/100 mil), ocupa a 14^a posição. Já na Região Centro-Oeste (2,08/100 mil), a 15^a. A última estimativa mundial apontou que para o triênio 2020/2022 os cânceres de cabeça e pescoço atinjam 19,5 mil novos casos por ano para homens e 17.140 novos casos por ano para mulheres, totalizando 36.640 novos casos por ano no período (INCA, 2020). Desordens potencialmente malignas também estão associadas à carcinogênese oral, CEOs têm sido documentados em associação ou precedidos por uma lesão potencialmente maligna (LPM). Leucoplasia, eritroplasia, eritroleucoplasia e a queilite actínica são as principais desordens envolvidas no surgimento de lesões malignas orais (EL-NAGGAR et al., 2017; WESTRA e LEWIS, 2017). Quando o desfecho de um grande número de lesões potencialmente malignas é revisto, a frequência de transformação em lesão maligna é maior do que o risco associado a uma mucosa normal ou não alterada, ressaltando a importância do diagnóstico precoce dessas lesões para o correto tratamento e acompanhamento (WARNAKULASURIYA, 2008). Clinicamente, a progressão para o fenótipo maligno,

comumente, não é observada nas LPMs (GOMES et al., 2015; EL-NAGGAR et al., 2017; WESTRA e LEWIS, 2017). Ao exame histopatológico, as LPMs demonstram, muitas vezes, diferentes graus de displasia epitelial, possibilitando predizer um potencial de malignidade (ROSIN et al., 2000; WARNAKULASURIYA et al., 2008). Apesar do exame histopatológico ainda ser a ferramenta padrão ouro para avaliar as LPMs (WARNAKULASURIYA et al., 2008; LIU et al., 2012; FONSECA-SILVA et al., 2016), a acurácia dos exames clínicos e histopatológicos são, cotidianamente, ainda de difícil previsão da transformação maligna dessas lesões (WARNAKULASURIYA, JOHNSON, VAN DER WAAL, 2007; PITIYAGE et al., 2009; WESTRA e LEWIS, 2017).

1.1 Via de sinalização PI3K/AKT/mTOR e o gene PTEN

A busca de marcadores preditivos e de prognóstico para o câncer continua sendo alvo de pesquisa, principalmente na carcinogênese oral, pois até então não há estes marcadores para o câncer de boca. Assim, a identificação de marcadores moleculares que possam sinalizar o comportamento e a transformação maligna são muito relevantes. Estudo recentes tem buscado associar a via de sinalização da fosfotidilinositol 3-quinase, via PI3K/AKT/mTOR, uma das mais desreguladas no câncer, com uma maior predição de transformação maligna das LPM (GOMES et al., 2015; FONSECA-SILVA et al., 2016; CHAVES et al., 2017), uma vez que se mostra associada à perda funcional de genes supressores tumorais (TSGs) (VELICKOVIC et al., 2002; COUTO, 2011), como o gene supressor *PTEN* (*Phosphatidylinositol triphosphate*) (GIUDICE e SQUARIZE, 2013).

Uma via da fosfotidilinositol 3-quinase, via PI3K/AKT/mTOR, está intimamente relacionada com metástase, angiogênese, progressão do ciclo celular, organização do citoesqueleto, crescimento e resistência ao tratamento (CLAUDITZ et al., 2013; GRIFFITH et al., 2013; PORTA, PAGLINO, MOSCA, 2014). A via é ativada por meio da ligação de fatores de crescimento que se ligam à membrana plasmática celular por meio de receptores tirosina quinase também presentes na membrana da célula. Essa ligação provoca uma cascata de sinalização intracelular que começa com a ativação da molécula *PI3K* (*Phosphatidylinositol-3-kinase*) que, através de seu subproduto *PIP3*, ativa *AKT* (ENGELMAN et al., 2009). Uma vez fosforilada, *AKT* pode ativar *mTOR* (*Mammalian Target of Rapamycin*), que regula a proliferação celular por fosforilação de P70S6 na transição da fase G1/S do ciclo. P70S6, por

sua vez, fosforila a proteína S6 da subunidade 40S do ribossomo (PS6), levando a síntese proteica celular (FINGAR et al., 2004). Esta reação é regulada negativamente pela desfosforilação do *PTEN* (Figura 1) (FAIVRE, KROEMER, RAYMOND; 2006; YUAN e CANTLEY, 2008).

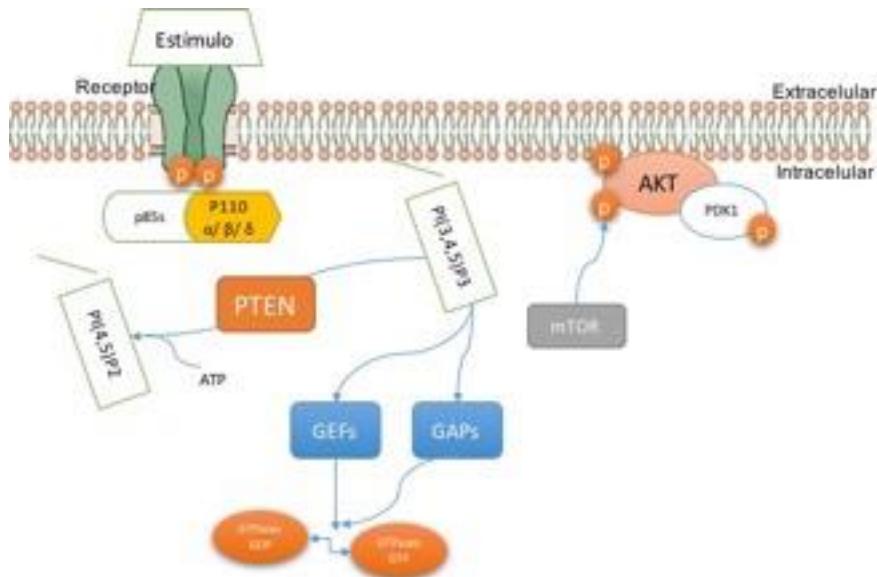


Figura 1: Esquema simplificado mostrando a ativação dos subprodutos da Classe IA e as múltiplas ações celulares da via PI3K. Fonte: Própria.

A perda de *PTEN* culmina com a estimulação da via *PI3K*, promovendo, assim, a sobrevida da célula e o crescimento tumoral (COURTNEY, CORCORAN, ENGELMAN; 2010). Quando o *PTEN* é deletado, ou está mutado ou ainda inativado, há um aumento na regulação de *AKT* por meio de efetores *PI3K*. Essa suprarregulação finalmente reduz a indução apoptótica, levando à continuada sobrevivência e proliferação celular, contribuindo para a tumorigênese e predispondo para o desenvolvimento do câncer. A rede de sinalização *PI3K-PTEN* é crucial para uma adequada regulação da sobrevivência celular (DAHIA, 2000; YAMADA e ARAKI, 2001; ALYASIRI et al., 2012; ANGADI e KRISHNAPILLAI, 2012).

Essa via de sinalização é crucial em muitos aspectos de crescimento celular e sobrevida, tanto em condições fisiológicas como patológicas. É uma via tão interligada que pode ser considerada como única, interagindo também com muitas outras vias, como, por exemplo, a do *HIF* (Fator Indutor de Hipoxia) (PORTA, PAGLINO, MOSCA, 2014).

Acrescenta-se ainda o fato de, que estudos sugerem o envolvimento de autofagolisossomos na inibição da via PI3K/AKT nos estágios iniciais da progressão da malignidade, sugerindo uma contribuição da autofagia celular como um mecanismo supressor tumoral (DEGTYAREV et al., 2008; NOGUCHI et al., 2014; CHAVES et al., 2017). No entanto, o papel da autofagia nesse processo é complexo, apresentando um papel dual. De certo modo as funções da autofagia atuam como um mecanismo supressor de tumor, evitando o acúmulo de organelas e proteínas danificadas. Por outro lado, a autofagia é um mecanismo fundamental para a sobrevivência de células tumorais ao inóspito microambiente tumoral (ZHI; ZHONG, 2015). Em ambientes de hipóxia e baixo pH, a autofagia foi observada pela identificação de proteínas associadas à autofagia como *LC3* e pela presença de vacúolos de dupla membrana, os chamados autofagossomos (WOJTKOWIAK; GILLIES, 2012).

1.2 Hipóxia e o fator de transcrição Fator Induzido por Hipóxia (HIF-1 α)

Em neoplasias, altos níveis de autofagia são observados, em decorrência de estresses presentes no microambiente tumoral, como a hipóxia, privação de nutrientes e a acidose (YANG et al., 2015). A hipóxia induz a expressão do fator de transcrição Fator Induzido por Hipóxia (HIF-1 α) que desencadeia uma resposta celular. O *HIF-1 α* é um regulador de autofagia induzida por hipóxia de mitocôndrias, denominada mitofagia, ocorrendo assim a redução da regulação da fosforilação oxidativa durante o processo de adaptação celular (ROHWER; CRAMER, 2011). Quando ativado, o *HIF-1 α* exerce papel essencial na resposta adaptativa das células em meio à baixa concentração de oxigênio (BRAHIMI-HORN et al., 2006; BRENNAN et al., 2005). Elevada expressão de *HIF-1 α* pode aumentar a progressão do câncer através da promoção da angiogênese tumoral e estimulação direta do crescimento de célula tumoral (LIN et al., 2008). Desse modo, desempenhando um papel na carcinogênese oral (KEITH et al., 2011).

O Fator Induzido por Hipóxia-1 (*HIF-1*) é um fator transcrecional que exerce um papel essencial na resposta adaptativa das células em meio a baixa concentração de oxigênio. *HIF-1* funciona como um regulador mestre da homeostase de oxigênio e sofre mudanças conformacionais em resposta a diferentes concentrações de oxigênio (BRAHIMI-HORN, POUYSSÉGUR, 2006; ZHENG et al., 2013). O gene que codifica *HIF-1 α* está localizado no cromossomo 14 (14q21-q24) (SEMENZA et al., 2010; ECKERT et al., 2012). O complexo transcrecional *HIF-1* consiste em duas subunidades (α e β), que dimerizam formando o

complexo *HIF*-1. A subunidade *HIF*-1 β é expressa constitutivamente (também conhecida como aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator ou ARNT) e presente no núcleo celular, já a subunidade *HIF*-1 α é sensível ao oxigênio e está presente no citoplasma celular têm como função o transporte da mensagem de hipóxia ao núcleo celular promovendo a geração de uma resposta (BRENNAN et al., 2005; KALUZ et al., 2008; ECKERT et al., 2012).

O processo de autofagia celular decorre de um grave estado de deficiência de nutrientes, nas quais as células não só interrompem seu crescimento, como também canibalizam suas próprias organelas como fontes de carbono para a produção de energia. No câncer, já foi demonstrado altos níveis de autofagia e este processo ocorre em decorrência de estresses presentes neste microambiente: a hipóxia, privação de nutrientes e a acidose (HOOGSTEEEN et al., 2007; YANG et al., 2015). Em estudos recentes com linhagens de células hepáticas humanas, foi verificado o aumento de marcadores de autofagia na presença do fator de transcrição *HIF*-1 α , concluindo-se que o mesmo regula e modula a autofagia (VAUPEL, MAYER; 2015).

1.3 Via autofágica e o complexo ATG-5-ATG12-ATG16

A via autofágica é controlada pelos genes *ATG*, que codificam a maquinaria intracelular, sendo responsável pela formação de autofagossomos, coleta de resíduos e transporte para o compartimento lisossomal (MIZUSHIMA, 2010). Defeitos nessa via está associado a danos celulares, intolerância ao estresse e comprometimento da sobrevivência celular, pois está associada à produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), insuficiência metabólica e aumento da proteinotoxicidade (WHITE, 2016). De fato, estudo em modelos animais, evidenciaram que defeitos da autofagia celular foram associados a neurodegeneração, inflamação crônica, esteatose hepática e dano muscular, além de uma susceptibilidade aumentada ao desenvolvimento de tumores e infecção por patógenos (MIZUSHIMA, KOMATSU, 2011; LEVINE, MIZUSHIMA, VIRGIN; 2011).

A formação e expansão da membrana do autofagossomo é mediada por dois sistemas de conjugação de proteínas semelhantes a ubiquitina, o *LC3* (*ATG8*) e o *ATG12*. O precursor de *LC3* é modificado primeiramente pelo *ATG4* para formar o *LC3-I*, que em seguida é modificado por *ATG3* e *ATG7* para uma forma menor, o *LC3-II*. O *LC3-II* é recrutado para o

crescimento da membrana pelo *ATG12*. Em seguida o complexo *ATG5-ATG12* se associa a *ATG16* para iniciar o processo de prolongação da membrana através do recrutamento de *LC3-II*. Uma vez formado o autofagossomo, o complexo *ATG5-ATG12-ATG16* se dissocia da membrana autofágica e é reciclado juntamente com o *LC3-II*. Nas células dos mamíferos, a via reguladora é melhor caracterizada através da classe I de *PI3K* e *mTOR*, que atuam inibindo a autofagia. A *mTOR*, atua inibindo a autofagia através das atividades inibitórias da serina/trionina e *ATG1* (VAN LIMBERGEN et al., 2009).

A privação de fatores de crescimento no microambiente tumoral ocorre devido à intensa proliferação celular e deficiente aporte sanguíneo. Devido a essas alterações metabólicas, a oscilação entre autofagia e apoptose promove a homeostase do tecido e proporciona que as células resistentes à apoptose utilizem a autofagia como mecanismo de sobrevivência quando os fatores de crescimento são limitados e a absorção dos nutrientes diminui (ALTMAN, RATHMELL; 2009). Também em ambientes de baixo pH, a autofagia foi observada pela identificação de proteínas associadas à autofagia como *LC3* e pela presença de vacúolos de dupla membrana, os chamados autofagossomos (WOJTKOWIAK, GILLIES; 2012).

Entretanto, a autofagia pode atuar também no início da carcinogênese, como um mecanismo de supressão tumoral, eliminando organelas e proteínas celulares. Além disso, a autofagia pode promover a degradação de agentes tóxicos e citotóxicos, atuando assim como um mecanismo preventivo (HIPPERT, THORBURN; 2006). Entretanto, não se sabe ao certo o mecanismo pelo qual a autofagia poderia contribuir para inibir o desenvolvimento do tumor, dentre as possibilidades, a mais aceita é a da degradação seletiva da catalase, que contribui para a neutralizar as espécies reativas de oxigênio, ocasionando a morte de células tumorais (HIPPERT, THORBURN, 2006; CUI et al., 2013)

Acrescenta-se ainda o fato de, que estudos sugerem o envolvimento de autofagolisossomos na inibição da via PI3K/AKT, nos estágios iniciais da progressão da malignidade, sugerindo uma contribuição da autofagia celular como um mecanismo supressor tumoral (DEGTYAREV et al., 2008; NOGUCHI et al., 2014; CHAVES et al., 2017). No entanto, o papel da autofagia nesse processo é complexo, apresentando um papel dual.

SNPs nos genes de reparo de DNA podem alterar a função proteica e a capacidade individual para reparar o DNA lesionado (PRATESI et al., 2011). É sugerido que diferentes tipos de polimorfismos genéticos e mutações em vários tipos de neoplasias podem auxiliar na

previsão da resposta clínica ao tratamento antineoplásico (AIELLO et al., 2011). Alguns polimorfismos comuns de baixa penetrância em genes que controlam o reparo do DNA têm sido relacionados com uma maior susceptibilidade ao câncer e consequentemente com uma maior ocorrência de casos de câncer na população (GAL et al., 2005).

Existem aproximadamente 150 genes que codificam enzimas envolvidas no reparo de vários tipos de danos ao DNA. A maioria das variações nessas enzimas resultam em alterações nos níveis e atividade enzimática. Assim, polimorfismos nos genes que codificam proteínas envolvidas em vias metabólicas ativadas após algum dano ao DNA podem influenciar a capacidade de reparo do DNA, alterando as propriedades funcionais de determinadas enzimas e modulando a susceptibilidade a neoplasias (WLODARCZYK e NOWICKA, 2012).

Na tentativa de se encontrar correlações entre polimorfismos genéticos e a susceptibilidade ao câncer, SNPs em genes de diferentes vias de reparo de DNA têm sido estudados recentemente. Dentre essas vias temos o gene supressor tumoral *PTEN*, hipóxia celular e a rede de sinalização PI3K-*PTEN*. Assim, considerando o papel dual da autofagia celular na carcinogênese e sua interação com a hipóxia celular e ao gene supressor tumoral *PTEN*, aliado a escassez de estudos utilizando marcadores de polimorfismos para estes eventos biológicos em Desordens Potencialmente Malignas e Câncer de Cavidade Oral e Labial, o propósito desse estudo é realizar uma revisão de literatura integrativa buscando estudar a hipótese de que variantes genéticas relacionadas a autofagia celular (como *ATG16L1*) podem influenciar a suscetibilidade às neoplasias malignas de região de cabeça e pescoço (CCP). Assim, conduzimos um estudo buscando elencar publicações que visem avaliar as associações de SNPs de marcação em genes da autofagia celular com risco de CCP e explorar a relevância biológica de SNPs promissores.

2. CAPÍTULO ÚNICO

Este trabalho é um artigo de revisão de literatura que está baseado nas normas que regulam o trabalho de conclusão de curso do Curso de Odontologia da Universidade Federal do Ceará - Campus Sobral do regimento interno do Curso de Odontologia da UFC - *Campus Sobral*, que regulamenta o formato de artigo em seu Capítulo III, artigo 8º, desde que seja um tema de relevância para Odontologia e siga as normas do periódico selecionado para publicação.

CAPÍTULO ÚNICO – “Estudo imunomolecular do papel da autofagia celular e do gene supressor *PTEN* no processo de malignização do câncer de cavidade oral e de lábio”.
Larisse da Costa Carvalho, Filipe Nobre Chaves. Este artigo será submetido para publicação no periódico da revista “*Research Society And Development*”. (ISSN: 25253409), que possui classificação C do Qualis Referência na Plataforma Sucupira (CAPES) referente ao presente quadriênio.

Página de Títulos

REVISÃO DE LITERATURA

ESTUDO IMUNOMOLECULAR DO PAPEL DA AUTOFAGIA CELULAR E DO GENE SUPRESSOR PTEN NO PROCESSO DE MALIGNIZAÇÃO DO CÂNCER DE CAVIDADE ORAL E DE LÁBIO

Larisso da Costa Carvalho, Filipe Nobre Chaves^{2*}

¹ Graduate Student, Faculty of Dentistry, Federal University of Ceará Campus Sobral, Sobral, Brazil.

² PhD, Adjunct Professor, Faculty of Dentistry, Federal University of Ceará Campus Sobral, Sobral, Brazil.

***Corresponding Author:** Filipe Nobre Chaves, DDS, MSc, PhD.

Rua Conselheiro José Júlio, S/N. Centro, Sobral, Ceará, Brazil.

Zip code: 62.010-820. Phone: +55(85) 3695-4626.

E-mail: filipenobrechaves@gmail.com

Funding: This work was supported by the CNPq Scientific Initiation Program - PIBIC and the Ceará Foundation for Support to Scientific and Technological Development - FUNCAP.

Conflict of Interest: Authors declares that they have no conflict of interest.

Acknowledgements: The authors would like to thank Profa. Dra. Denise Helen Imaculada Pereira de Oliveira and Prof. Dr. Marcelo Bonifacio da Silva Sampieri from the Federal University of Ceará, Brazil, for the contribution in this work.

All authors have agreed to the submission.

RESUMO

O câncer oral é um conjunto de neoplasias malignas distribuídas em região de cabeça e pescoço e tem sido a causa de uma alta taxa de mortalidade mundialmente. O tabaco e álcool são os fatores de risco mais conhecidos, porém, estudos mostraram que fatores genéticos podem ser influentes nesse meio, dentre eles, a via autófágica, que tem sido alvo de pesquisas por apresentarem um envolvimento de efeito dual, tanto na oncogênese, quanto na atividade de supressão tumoral. Dito isso, o gene *ATG6L1* foi o que mais pareceu estar envolvido nesse processo de carcinogênese. Assim, objetivou-se analisar variantes genéticas relacionadas à autófagia celular que influenciam a uma maior suscetibilidade às neoplasias malignas orais. Este trabalho trata-se de uma revisão de literatura integrativa acerca do câncer bucal. A busca foi feita na base de dados PUBMED utilizando-se a combinação de descritores controlados, cadastrados no Medical Subject Headings (*MeSH*): *autophagy cancer, oral cancer, polymorphisms, ATG16L01*. Os critérios de inclusão foram estudos primários sobre câncer de cabeça e pescoço (CCP); estudos disponíveis na íntegra. Como critério de exclusão definiu-se artigos repetidos nas bases de dados; artigos de opinião; artigos de reflexão e editoriais. Foram selecionados 5 artigos, entretanto 3 artigos seguiram os critérios de inclusão e exclusão. Destes trabalhos que utilizaram a técnica de isolamento e genotipagem dos genes relacionados com a formação do autófagossomo mostraram que o gene ATG10 rs1864183 pode estar relacionado com uma maior suscetibilidade para o desenvolvimento do câncer de laringe, o ATG2B rs3759601 com o câncer de faringe e ATG16L1 rs2241880 com carcinoma oral. Já o rs26537 de ATG12 foram associados ao aumento do risco de CCP e que o mesmo está intimamente associado ao desenvolvimento e progressão maligna. Um estudo buscou associar a expressão imuno-histoquímica de ATG16L em câncer de células escamosas orais, observando que uma superexpressão foi significativamente associada ao estágio da doença, tamanho do tumor, metástase linfonodal e grau histológico, bem como influenciou a sobrevida global e o tempo de recorrência de pacientes. Logo, observa-se a importância da via autófágica na suscetibilidade do carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço. Destarte, estudos são necessários para confirmar as descobertas e mapear os mecanismos moleculares a fim de permitir intervenções precoces e até mesmo o desenvolvimento de medicamentos que venham a interferir nessas vias.

Palavras chaves: Autófagia; Neoplasias Bucais; Polimorfismo de Nucleotídeo Único.

INTRODUÇÃO

Em 2019, segundo dados do INCA, foram 20.722 mortes por câncer de cabeça e pescoço. O alto índice de mortalidade é, especialmente, devido aos pacientes chegarem para o tratamento já com a doença avançada. Os mais afetados são principalmente homens acima de 40 anos, sendo mais comuns os de laringe e de cavidade oral (lábios, boca, glândulas salivares, faringe). No Brasil, em média, 76% dos casos só são diagnosticados em estágio avançado, o que dificulta o tratamento, além de elevar a taxa de mortalidade (INCA, 2021).

Tabagismo, consumo de álcool e a infecção pelo vírus do papiloma humano (HPV) são os principais fatores ambientais dos carcinomas espinocelulares de cabeça e pescoço (HNSCC), no entanto, variantes genéticas, como polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), também desempenham papéis importantes na carcinogênese de cabeça e pescoço. A observação de agregações familiares em HNSCC pode sugerir a existência de fatores de predisposição genética. Muitos estudos de caso-controle determinaram essa suscetibilidade genética, aumentando o risco entre 2 a 4 vezes para a família de pacientes com HNSCC de primeiro grau (FERNÁNDEZ-MATEOS et al., 2017).

Até agora, três estudos de associação genômica revelaram vários loci de suscetibilidade associados ao risco de HNSCC, que explicam apenas uma pequena fração dos componentes hereditários. Portanto, a herdabilidade remanescente ainda precisa ser identificada (LESSEUR et al., 2016; WEI et al., 2014; MCKAY et al., 2011).

A autofagia é um processo catabólico mediado por lisossomos que captura e degrada organelas e proteínas citoplasmáticas para manter o metabolismo e a homeostase nas células. A deficiência de autofagia foi revelada na patogênese de muitas doenças humanas, incluindo doenças neurodegenerativas, doenças hepáticas, infecções e câncer. No entanto, o papel da autofagia no câncer é complexo e altamente dependente do contexto. A autofagia pode inibir a proliferação de células cancerígenas nas etapas iniciais da tumorigênese, mas prolongar a sobrevivência das células tumorais durante a progressão do câncer. Apresentando, assim, um papel dual e mostrando um desenvolvimento importante na carcinogênese, incluindo malignidades de região de cabeça e pescoço (KLIONSKY et al., 2012; LEVINE et al., 2008; FAN et al., 2015). Além disso, evidências epidemiológicas mostraram que várias variantes genéticas em genes relacionados ao *ATG* podem influenciar a expressão ou a função biológica e,

consequentemente, contribuir para o desenvolvimento do câncer ao desregular o processo de autofagia (SONG et al., 2018).

No presente estudo, realizamos uma revisão de literatura integrativa buscando estudar a hipótese de que variantes genéticas relacionadas a autofagia celular (como *ATG16L1*) podem influenciar a suscetibilidade às neoplasias malignas de região de cabeça e pescoço (CCP). Assim, conduzimos um estudo buscando elencar publicações que visem avaliar as associações de SNPs de marcação em genes da autofagia celular com risco de CCP e explorar a relevância biológica de SNPs promissores.

METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão de literatura integrativa acerca do câncer bucal, operacionalizada a partir das seguintes etapas: identificação do tema e seleção da questão de pesquisa; estabelecimento de critérios de inclusão e exclusão; identificação dos estudos pré-selecionados e selecionados; categorização dos estudos selecionados; análise e interpretação dos resultados e apresentação da revisão/ síntese do conhecimento (GALVÃO et al., 2010; BREVIDELLI et al., 2010).

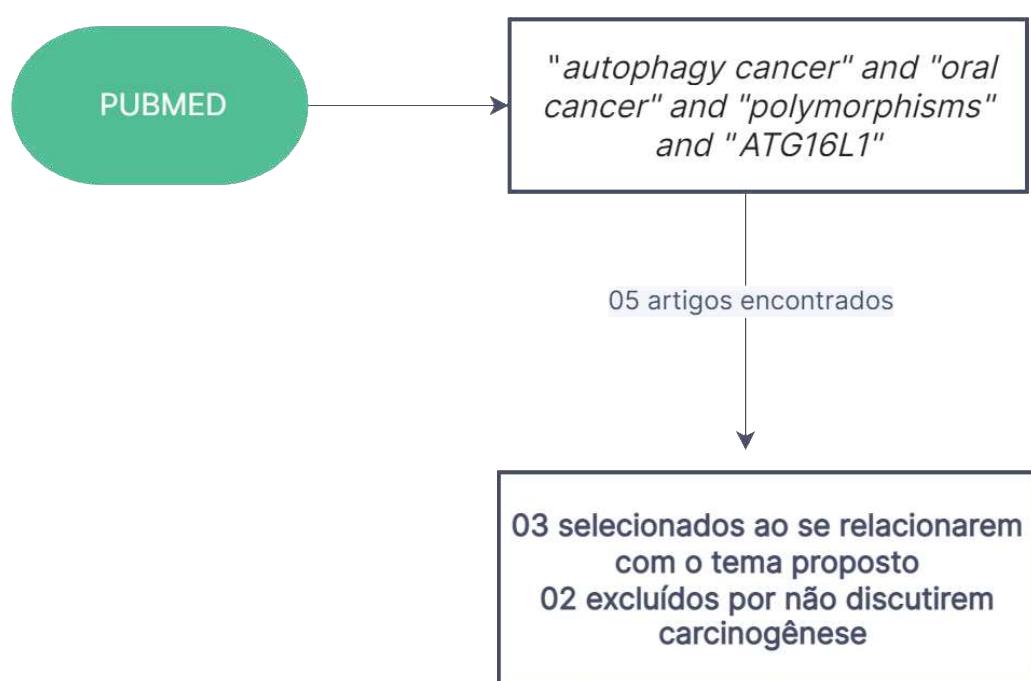
Para condução a questão norteadora foi elaborada por meio da estratégia PICO (P: Paciente, I: Intervenção, C: Comparação e O: Outcomes ou desfecho): Qual(is) a(s) variantes genéticas relacionadas a autofagia celular que influenciam a uma maior suscetibilidade às neoplasias malignas de região de cabeça e pescoço?

Para elaboração da pesquisa foi realizada a busca na base de dados PUBMED, utilizando-se a combinação de descritores controlados, cadastrados no Medical Subject Headings (MesH): *autophagy cancer, oral cancer, polymorphisms, ATG16L01*. Os critérios de inclusão foram: estudos primários sobre CCP; estudos disponíveis na íntegra; de forma eletrônica. Como critério de exclusão definiu-se: artigos repetidos nas bases de dados; artigos de opinião; artigos de reflexão e editoriais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nas estratégias de buscas utilizadas foram encontrados um total de 5 artigos. Após a leitura do título e resumo foram excluídas 2 publicações por serem duplicadas e/ou não atenderem aos critérios de elegibilidade. Assim, 3 artigos preencheram os critérios de inclusão e foram selecionados. O processo de análise e seleção utilizado no presente estudo está reproduzida em forma de fluxograma (Figura 1). O Quadro 1 expõe os artigos selecionados nas bases de dados.

Figura 1: Processo de identificação e inclusão dos estudos.



Quadro1: Artigos incluídos na revisão

ESTUDO	POPULAÇÃO	AMOSTRA	MÉTODO	OBJETO DE ESTUDO	RESULTADOS
Fernandez-Mateos et. al 2017	450 pacientes	213 casos de carcinoma de laringe, 165 de faringe e 72 de cavidade oral	Isolamento e genotipagem de DNA	Quatro polimorfismos candidatos em genes de autofagia (<i>ATG2B</i> , <i>ATG5</i> , <i>ATG10</i> , <i>ATG16L1</i>).	Associação entre a variante em <i>ATG10</i> rs1864183 e uma maior suscetibilidade para desenvolver câncer de laringe, <i>ATG2B</i> rs3759601 e câncer de faringe e <i>ATG16L1</i> rs2241880 e carcinoma oral. O SNP em <i>ATG5</i> rs2245214 não foi associado a nenhum local.
Song et. al 2018	2128 pacientes	576 casos de (HNSCC) e 1552 controles saudáveis	Seleção e genotipagem de SNP	11 polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) de marcação de três genes centrais de formação de autofagossomos (<i>ATG5</i> , <i>ATG12</i> e <i>ATG16L1</i>).	A análise identificou que rs26537 de <i>ATG12</i> foram significativamente associados ao aumento do risco de HNSCC. No entanto, nenhuma associação foi detectada entre outros SNPs e o risco de HNSCC.
Tang et. al 2014	90 pacientes	90 casos de OSCC primário não tratado previamente	Imuno-histoquímica	Proteína do Gene <i>ATG16L1</i>	30% dos pacientes exibiram superexpressão de <i>ATG16L1</i> e foi significativamente associada ao estágio da doença, tamanho do tumor, metástase linfonodal e grau histológico. A superexpressão de <i>ATG16L1</i> afetou significativamente a sobrevida global e o tempo de recorrência

A autofagia é um processo catabólico mediado por lisossomos que captura e degrada organelas e proteínas citoplasmáticas para manter o metabolismo e a homeostase das células. Foi relatado que a autofagia desempenha uma variedade de funções nas células, como a preservação da função de organelas, a remoção de proteínas e organelas intracelulares e a adaptação de células à fome. Este processo começa pela formação do autofagossomo de dupla membrana e termina com a fusão com os lisossomos para formar o autofagolisossomo que contém hidrolases para a degradação do conteúdo.

Este complexo autogossomo é sintetizado por genes relacionados à autofagia (*ATG*). A autofagia participa tanto do início quanto da prevenção do câncer, e sua função pode ser alterada durante a progressão do tumor. Embora a autofagia seja uma atividade supressora do tumor, ela também está envolvida na oncogênese, inibindo a morte celular e aumentando a resistência aos medicamentos. Participa de importantes vias ligadas à carcinogênese, bem como à resposta imune, à inflamação e à estabilidade do genoma. Além disso, a deficiência desta função foi revelada na patogênese de muitas doenças humanas, incluindo doenças neurodegenerativas, doenças hepáticas, infecções e câncer.

Inúmeras evidências epidemiológicas mostraram que várias variantes genéticas em genes relacionados ao *ATG* podem influenciar a expressão ou a função biológica e, consequentemente, contribuir para o desenvolvimento do câncer ao desregular o processo de autofagia. No entanto, os mecanismos precisos que envolvem a autofagia no câncer ainda não estão definidos. No HNSCC, os mecanismos de autofagia ainda são desconhecidos e podem simbolizar uma área importante para pesquisas futuras. *ATG16L1* é essencial para a formação do autogossomo, que interage com *ATG12-ATG5* e então facilita a conjugação de outras proteínas *ATG* críticas. Alguns pesquisadores identificaram associações entre um SNP não sinônimo em *ATG16L1* (Thr300Ala, rs2241880) e o risco de diferentes tipos de câncer, como câncer de tireoide, câncer colorretal e câncer gástrico (BURADA et al., 2016; NICOLI et al., 2014).

Fernández-Mateos et al. (2017) conduziram um estudo de associação caso-controle pareado com fator de risco em uma população espanhola de 450 pacientes distribuídos em 213 casos de carcinoma de laringe, 165 de faringe e 72 de cavidade oral pertencentes ao Grupo

Cooperativo Espanhol de Câncer de Cabeça e Pescoço (TCC) onde foram estudados quatro polimorfismos candidatos em genes de autofagia (*ATG2B*, *ATG5*, *ATG10*, *ATG16L1*). Foi-se observado que possa haver uma associação entre a variante em *ATG10* rs1864183 e uma maior suscetibilidade para desenvolver câncer de laringe, *ATG2B* rs3759601 e câncer de faringe e *ATG16L1* rs2241880 e carcinoma oral. O SNP em *ATG5* rs2245214 não foi associado a nenhum local.

No trabalho de Song et al. (2018) foi-se realizado um estudo de caso-controle em uma população chinesa advindos do Primeiro Hospital Afiliado da Universidade Médica de Nanjing e do Hospital Estomatológico de Jiangsu a fim de analisar 11 polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) de marcação de três genes centrais de formação de autofagossomos (*ATG5*, *ATG12* e *ATG16L1*). Foram examinados 576 casos de Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço (HNSCC) e 1552 controles saudáveis entre a população chinesa. A análise identificou que rs26537 de *ATG12* foram significativamente associados ao aumento do risco de HNSCC. No entanto, nenhuma associação foi detectada entre outros SNPs e o risco de HNSCC. Os resultados da análise de loci de traço quantitativo de expressão (eQTL) com base em dados acessíveis de Expressão Genotípica-Tecido (GTEx), mostraram que o alelo de risco de rs 26537 foi significativamente associado à expressão regulada positivamente de *ATG12* ($P = 0,0021$). O ensaio adicional da atividade da luciferase indicou que rs 26537 T > C na região do ítron *ATG12* aumentou significativamente a atividade de transcrição. Esses resultados sugeriram que o *ATG12* eQTL SNP rs 26537 pode contribuir para um efeito alelo específico na expressão do gene hospedeiro *ATG12* e explicar uma fração da suscetibilidade genética do HNSCC.

Já no estudo de Tang et. al (2014) foram analisadas amostras de 90 pacientes taiwaneses que compareceram ao Departamento de Cirurgia Oral e Maxilofacial do Hospital Universitário Kaohsiung Medical que apresentavam Carcinoma Oral de Células Escamosas (OSCC) primário não tratado previamente confirmado histologicamente. O objetivo foi vincular a expressão de *16-like 1* relacionada à autofagia (*ATG16L1*), uma proteína essencial para a formação do autofagossomo, ao resultado clínico em uma coorte desses pacientes. Como resultados, obtiveram que 30% dos pacientes exibiram superexpressão de *ATG16L1* e foi significativamente associada ao estágio da doença, tamanho do tumor, metástase linfonodal e grau histológico. A superexpressão de *ATG16L1* afetou significativamente a sobrevida global e o tempo de recorrência de pacientes com OSCC.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Algumas limitações foram encontradas neste estudo. Primeiro, em relação a base de dados utilizada, restringida apenas ao PUBMED. Segundo, não houve um aprofundamento maior sobre o tema relacionado às Desordens Potencialmente Malignas e seus mecanismos de transformação maligna. Os estudos revisados mostraram que genes envolvidos na autofagia foram expressos com maior significância em situações cancerígenas, principalmente a proteína do Gene *ATG16L1*, que pareceu se relacionar mais fortemente com o câncer oral. Dito isso, infere-se que essa via autófágica possa ser alvo de maiores estudos.

Assim, haja vista que um dos principais fatores da mortalidade do câncer de cabeça e pescoço é um grande desafio para tratamento são os diagnósticos realizados em estado já avançado da doença, enfatiza-se a necessidade de melhores maneiras de identificação desta condição, permitindo assim um diagnóstico precoce e possivelmente melhores condições de tratamento e prevenção. Para isso, outros grandes estudos com investigações mais funcionais são necessários para obter uma compreensão profunda da contribuição da autófagia para o HNSCC.

3. CONCLUSÃO GERAL

Logo, observa-se a importância da via autofágica na suscetibilidade do carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço, mas o mecanismo molecular exato na etiologia desta neoplasia ainda não foi investigado. Para isso, estudos são necessários a fim de confirmar as descobertas e mapear os tais mecanismos moleculares a fim de permitir intervenções precoces e até mesmo o desenvolvimento de medicamentos que venham a interferir nessas vias.

REFERÊNCIAS

- ALTMAN, B. J.; RATHMELL, J. C. Autophagy: not good OR bad, but good AND bad. **Autophagy**, v. 5, n. 4, p. 569-70, May 2009. ISSN 1554-8627.
- ALYASIRI, N. S. et al. PTEN-mediated AKT activation contributes to the reduced apoptosis among Indian oral squamous cell carcinoma patients. **J Cancer Res Clin Oncol**, v. 138, n. 1, p. 103-9, Jan 2012. ISSN 0171-5216.
- ANGADI, P. V.; KRISHNAPILLAI, R. Evaluation of PTEN immunoexpression in oral submucous fibrosis: role in pathogenesis and malignant transformation. **Head Neck Pathol**, v. 6, n. 3, p. 314-21, Sep 2012. ISSN 1936-055x.
- BRENNAN, M. et al. Management of oral epithelial dysplasia: a review. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 103 Suppl, p. S19.e1-12, Mar 2007. ISSN 1079-2104.
- BREVIDELLI,M.M.; SERTÓRIO,S.C.M. Trabalho de conclusão de curso: guia prático para docentes e alunos da área da saúde. São Paulo: Iátrica, 2010.p.105-126.
- BURADA, Florin et al. ATG16L1 T300A polymorphism is correlated with gastric cancer susceptibility. **Pathology & Oncology Research**, v. 22, p. 317-322, 2016.
- CHAVES, F. N. et al. Evaluation of the p-AKT, p-JNK and FoxO3a function in oral epithelial dysplasia. **Oral Dis**, v. 23, n. 3, p. 367-378, Apr 2017. ISSN 1354-523x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/odi.12623> >;
- CLAUDITZ, T. S. et al. Abundant expression of mTOR kinase in salivary gland tumors - potentials as therapy target? **J Oral Pathol Med**, v. 42, n. 10, p. 769-73, Nov 2013. ISSN 0904-2512. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/jop.12064> >;
- COURTNEY, K. D.; CORCORAN, R. B.; ENGELMAN, J. A. The PI3K pathway as drug target in human cancer. **J Clin Oncol**, v. 28, n. 6, p. 1075-83, Feb 20 2010. ISSN 0732-183x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1200/jco.2009.25.3641> >;
- DAHIA, P. L. PTEN, a unique tumor suppressor gene. **Endocr Relat Cancer**, v. 7, n. 2, p. 115-29, Jun 2000. ISSN 1351-0088 (Print)1351-0088. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >;
- DANTAS, T. S. et al. Influence of Educational Level, Stage, and Histological Type on Survival of Oral Cancer in a Brazilian Population: A Retrospective Study of 10 Years Observation. **Medicine (Baltimore)**, v. 95, n. 3, p. e2314, Jan 2016. ISSN 0025-7974. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1097/md.0000000000002314> >;
- EL-NAGGAR, A. K.; CHAN, J. K. C; GRANDIS, J. R.; TAKATA, T.; SLOOTWEG, P. J. WHO Classification of Head and Neck Tumours (4th edition). IARC: Lyon 2017.

ENGELMAN, J. A. Targeting PI3K signalling in cancer: opportunities, challenges and limitations. **Nat Rev Cancer**, v. 9, n. 8, p. 550-62, Aug 2009. ISSN 1474-175x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/nrc2664> >;

FAIVRE, S.; KROEMER, G.; RAYMOND, E. Current development of mTOR inhibitors as anticancer agents. In: (Ed.). **Nat Rev Drug Discov**. England, v.5, 2006. p.671-88. ISBN 1474-1776 (Print)1474-1776 (Linking).

FAN, Teng-Fei et al. Tumor growth suppression by inhibiting both autophagy and STAT3 signaling in HNSCC. **Oncotarget**, v. 6, n. 41, p. 43581, 2015.

FERNÁNDEZ-MATEOS, Javier et al. Analysis of autophagy gene polymorphisms in Spanish patients with head and neck squamous cell carcinoma. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-8, 2017.

FINGAR, D. C. et al. mTOR controls cell cycle progression through its cell growth effectors S6K1 and 4E-BP1/eukaryotic translation initiation factor 4E. **Mol Cell Biol**, v. 24, n. 1, p. 200-16, Jan 2004. ISSN 0270-7306 (Print)0270-7306. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >;

FONSECA-SILVA, T. et al. Association between histopathological features of dysplasia in oral leukoplakia and loss of heterozygosity. **Histopathology**, v. 68, n. 3, p. 456-60, Feb 2016. ISSN 0309-0167. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/his.12746> >;

GALVÃO, C. M.; MENDES, K. D. S.; SILVEIRA, R. C. C. P. Revisão integrativa: método de revisão para sintetizar as evidências disponíveis na literatura. **Brevidelli MM, Sertório SCM. Trabalho de conclusão de curso: guia prático para docentes e alunos da área da saúde**. São Paulo: Iátrica, p. 105-26, 2010.

GIUDICE, F. S.; SQUARIZE, C. H. The determinants of head and neck cancer: Unmasking the PI3K pathway mutations. **J Carcinog Mutagen**, v. Suppl 5, Aug 02 2013. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.4172/2157-2518.s5-003> >;

GOMES, C. C. et al. Inter- and intra-lesional molecular heterogeneity of oral leukoplakia. **Oral Oncol**, v. 51, n. 2, p. 178-81, Feb 2015. ISSN 1368-8375. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.oraloncology.2014.11.003> >;

GRIFFITH, C. C. et al. PIK3CA mutations and PTEN loss in salivary duct carcinomas. **Am J Surg Pathol**, v. 37, n. 8, p. 1201-7, Aug 2013. ISSN 0147-5185. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1097/PAS.0b013e3182880d5a> >;

HIPPERT, M. M.; O'TOOLE, P. S.; THORBURN, A. Autophagy in cancer: good, bad, or both? **Cancer Res**, v. 66, n. 19, p. 9349-51, Oct 1 2006. ISSN 0008-5472.

HOOGSTEEEN, I. J. et al. The hypoxic tumour microenvironment, patient selection and hypoxia-modifying treatments. **Clin Oncol (R Coll Radiol)**, v. 19, n. 6, p. 385-96, Aug 2007. ISSN 0936-6555 (Print)

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. Estimativa 2016: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro, 2016.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (Brasil). Diagnóstico precoce do câncer de boca. Rio de Janeiro, RJ: Instituto Nacional do Câncer, 2022. ISBN 978-65-88517-20-8 (versão eletrônica). Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/diagnostico-precoce-do-cancer-de-boca>. Acesso em: 16 fev. 2023.

KLIONSKY, Daniel J. et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy. **Autophagy**, v. 8, n. 4, p. 445-544, 2012.

LESSEUR, Corina et al. Genome-wide association analyses identify new susceptibility loci for oral cavity and pharyngeal cancer. **Nature genetics**, v. 48, n. 12, p. 1544-1550, 2016.

LEVINE, Beth; KROEMER, Guido. Autophagy in the pathogenesis of disease. **Cell**, v. 132, n. 1, p. 27-42, 2008.

LIU, J. C. et al. Combined deletion of Pten and p53 in mammary epithelium accelerates triple-negative breast cancer with dependency on eEF2K. **EMBO Mol Med**, v. 6, n. 12, p. 1542-60, Dec 2014. ISSN 1757-4676. Disponível em: < [>](http://dx.doi.org/10.15252/emmm.201404402);

MCKAY, James D. et al. A genome-wide association study of upper aerodigestive tract cancers conducted within the INHANCE consortium. **PLoS genetics**, v. 7, n. 3, p. e1001333, 2011.

MIZUSHIMA, N. The role of the Atg1/ULK1 complex in autophagy regulation. **Curr Opin Cell Biol**, v. 22, n. 2, p. 132-9, Apr 2010. ISSN 0955-0674.

MIZUSHIMA, N.; KOMATSU, M. Autophagy: renovation of cells and tissues. **Cell**, v. 147, n. 4, p. 728-41, Nov 11 2011. ISSN 0092-8674.

NICOLI, Elena-Raluca et al. Determination of autophagy gene ATG16L1 polymorphism in human colorectal cancer. **Rom J Morphol Embryol**, v. 55, n. 1, p. 57-62, 2014.

PORTA, C.; PAGLINO, C.; MOSCA, A. Targeting PI3K/Akt/mTOR Signaling in Cancer. **Front Oncol**, v. 4, p. 64, 2014. ISSN 2234-943X (Print)

ROHWER, N.; CRAMER, T. Hypoxia-mediated drug resistance: novel insights on the functional interaction of HIFs and cell death pathways. **Drug Resist Updat**, v. 14, n. 3, p. 191-201, Jun 2011. ISSN 1368-7646.

ROSIN, M. P. et al. Use of allelic loss to predict malignant risk for low-grade oral epithelial dysplasia. **Clin Cancer Res**, v. 6, n. 2, p. 357-62, Feb 2000. ISSN 1078-0432 (Print)1078-0432. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >;

SONG, Xueyao et al. ATG12 expression quantitative trait loci associated with head and neck squamous cell carcinoma risk in a Chinese Han population. **Molecular Carcinogenesis**, v. 57, n. 8, p. 1030-1037, 2018.

TANG, Jen-Yang et al. Overexpression of autophagy-related 16-like 1 in patients with oral squamous cell carcinoma. **Pathology & Oncology Research**, v. 21, p. 301-305, 2015.

VAN LIMBERGEN, J. et al. Autophagy: from basic science to clinical application. **Mucosal Immunol**, v. 2, n. 4, p. 315-30, Jul 2009. ISSN 1933-0219.

VAUPEL, P.; MAYER, A. The clinical importance of assessing tumor hypoxia: relationship of tumor hypoxia to prognosis and therapeutic opportunities. **Antioxid Redox Signal**, v. 22, n. 10, p. 878-80, Apr 1 2015. ISSN 1523-0864.

WARNAKULASURIYA, S. et al. Oral epithelial dysplasia classification systems: predictive value, utility, weaknesses and scope for improvement. **J Oral Pathol Med**, v. 37, n. 3, p. 127-33, Mar 2008. ISSN 0904-2512. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0714.2007.00584.x> >;

WARNAKULASURIYA, S.; JOHNSON, N. W.; VAN DER WAAL, I. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. **J Oral Pathol Med**, v. 36, n. 10, p. 575-80, Nov 2007. ISSN 0904-2512 (Print)0904-2512. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0714.2007.00582.x> >;

WEI, Qingyi et al. Genome-wide association study identifies three susceptibility loci for laryngeal squamous cell carcinoma in the Chinese population. **Nature genetics**, v. 46, n. 10, p. 1110-1114, 2014.

WESTRA, W. H.; LEWIS, J. S., JR. Update from the 4th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: Oropharynx. **Head Neck Pathol**, v. 11, n. 1, p. 41-47, Mar 2017. ISSN 1936-055x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s12105-017-0793-2> >;

WOJTKOWIAK, J. W.; GILLIES, R. J. Autophagy on acid. **Autophagy**, v. 8, n. 11, p. 1688-9, Nov 2012. ISSN 1554-8627.

YANG, Z. J. et al. The role of autophagy in cancer: therapeutic implications. **Mol Cancer Ther**, v. 10, n. 9, p. 1533-41, Sep 2011. ISSN 1535-7163.

YUAN, T. L.; CANTLEY, L. C. PI3K pathway alterations in cancer: variations on a theme. **Oncogene**, v. 27, n. 41, p. 5497-510, Sep 18 2008. ISSN 0950-9232. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/onc.2008.245> >;

ZHI, X.; ZHONG, Q. Autophagy in cancer. **F1000Prime Rep**, v. 7, p. 18, 2015. ISSN 2051-7599

ANEXO – NORMAS DA REVISTA PARA SUBMISSÃO DO ARTIGO

Diretrizes para Autores – “*Research, Society And Development*”

1) Estrutura do texto:

- Título em Português, Inglês e Espanhol.
- Os autores do artigo (devem ser colocados nesta sequência: nome, ORCID, instituição, e-mail). OBS.: O número do ORCID é individual para cada autor, e ele é necessário para o registro no DOI, e em caso de erro, não é possível realizar o registro no DOI).
- Resumo e Palavras-chave em português, inglês e espanhol (o resumo deve conter objetivo do artigo, metodologia, resultados e conclusão do estudo. Deve ter entre 150 a 250 palavras);
- Corpo do texto (deve conter as seções: 1. Introdução, na qual haja contextualização, problema estudado e objetivo do artigo; 2. Metodologia utilizada no estudo, bem como autores de suporte a metodologia; 3. Resultados (ou alternativamente, 3. Resultados e Discussão, renumerando os demais subitens); 4. Discussão e, 5. Considerações finais ou Conclusão);
- Referências: (Autores, o artigo deve ter no mínimo 20 referências as mais atuais possíveis. Tanto a citação no texto, quanto no item de Referências, utilizar o estilo de formatação da APA - *American Psychological Association*. As referências devem ser completas e atualizadas. Colocadas em ordem alfabética crescente, pelo sobrenome do primeiro autor da referência. Não devem ser numeradas. Devem ser colocadas em tamanho 8 e espaçamento 1,0, separadas uma das outras por um espaço em branco).

2) Layout:

- Formato Word (.doc);
- Escrito em espaço 1,5 cm, utilizando Times New Roman fonte 10, em formato A4 e as margens do texto deverão ser inferior, superior, direita e esquerda de 1,5 cm.;
- Recuos são feitos na régua do editor de texto (não pela tecla TAB);
- Os artigos científicos devem ter mais de 5 páginas.

3) Figuras:

O uso de imagens, tabelas e as ilustrações deve seguir o bom senso e, preferencialmente, a ética e axiologia da comunidade científica que discute os temas do manuscrito. Obs: o tamanho máximo do arquivo a ser submetido é de 10 MB (10 mega).

As figuras, tabelas, quadros etc. (devem ter sua chamada no texto antes de serem inseridas. Após a sua inserção, deve constar a fonte (de onde vem a figura ou tabela...) e um parágrafo de comentário no qual se diga o que o leitor deve observar de importante neste recurso. As figuras, tabelas e quadros... devem ser numeradas em ordem crescente. Os títulos das tabelas, figuras ou quadros devem ser colocados na parte superior e as fontes na parte inferior.

4) Autoria:

O arquivo em word enviado (anexado) no momento da submissão NÃO deve ter os nomes dos autores.

Todos os autores precisam ser incluídos apenas no sistema da revista e na versão final do artigo (após análise dos pareceristas da revista). Os autores devem ser registrados apenas nos metadados e na versão final do artigo (artigo final dentro do template) em ordem de importância e contribuição na construção do texto. OBS.: Autores escrevam o nome dos autores com a grafia correta e sem abreviaturas no início e final artigo e também no sistema da revista.

O artigo pode ter no máximo 7 autores. Para casos excepcionais é necessário consulta prévia à Equipe da Revista.

5) Comitê de Ética e Pesquisa:

Pesquisas envolvendo seres humanos devem apresentar aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa.

6) Vídeos tutoriais:

- Cadastro de novo usuário: <https://youtu.be/udVFytOmZ3M>
- Passo a passo da submissão do artigo no sistema da revista: <https://youtu.be/OKGdHs7b2Tc>

7) Exemplo de referências em APA:

- Artigo em periódico:

Gohn, M. G. & Hom, C. S. (2008). Abordagens Teóricas no Estudo dos Movimentos Sociais na América Latina. *Caderno CRH*, 21(54), 439-455.

- Livro:

Ganga, G. M. D.; Soma, T. S. & Hoh, G. D. (2012). *Trabalho de conclusão de curso (TCC) na engenharia de produção*. Atlas.

- Página da internet:

Amoroso, D. (2016). *O que é Web 2.0?* <http://www.tecmundo.com.br/web/183-o-que-e-web-2-0->

8) A revista publica artigos originais e inéditos que não estejam postulados simultaneamente em outras revistas ou órgãos editoriais.

9) Dúvidas: Quaisquer dúvidas envie um e-mail para rsd.articles@gmail.com ou dorlivete.rsd@gmail.com ou WhatsApp (55-11-98679-6000)

Declaração de Direito Autoral

Autores que publicam nesta revista concordam com os seguintes termos:

1) Autores mantém os direitos autorais e concedem à revista o direito de primeira publicação, com o trabalho simultaneamente licenciado sob a Licença Creative Commons Attribution que permite o compartilhamento do trabalho com reconhecimento da autoria e publicação inicial nesta revista.

2) Autores têm autorização para assumir contratos adicionais separadamente, para distribuição não-exclusiva da versão do trabalho publicada nesta revista (ex.: publicar em repositório institucional ou como capítulo de livro), com reconhecimento de autoria e publicação inicial nesta revista.

3) Autores têm permissão e são estimulados a publicar e distribuir seu trabalho online (ex.: em repositórios institucionais ou na sua página pessoal) a qualquer ponto antes ou durante o processo editorial, já que isso pode gerar alterações produtivas, bem como aumentar o impacto e a citação do trabalho publicado.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.