

## NOVOS BIOMARCADORES PARA CÂNCER DE COLO UTERINO: ANÁLISE EM PACIENTES COM LESÃO CERVICAL DE ALTO GRAU

GABRIELA DAL BOSCO LAZZARIN<sup>1,2</sup>, LARISSA CAMPOS LINCK<sup>3</sup>, SARAH FRANCO VIEIRA DE OLIVEIRA MACIEL MACIEL<sup>2,4</sup>, ANDREIA MACHADO CARDOSO<sup>2,5</sup>

### 1 Introdução

A infecção persistente por subtipos oncogênicos do Papilomavírus Humano (HPV) representa o principal fator de risco para o desenvolvimento de lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (HSIL), precursoras do câncer de colo do útero (CCU) (Senapati; Senapati; Dwibedi, 2016). O microambiente tumoral dessas lesões apresenta intensa atividade inflamatória e imunossupressora, na qual o sistema purinérgico exerce papel central (Franciosi et al., 2022). O ATP extracelular, através de receptores como o P2X7, atua como sinalizador pró-inflamatório, modulando a liberação de citocinas e favorecendo a progressão tumoral (Di Virgilio et al., 2018).

### 2 Objetivos

Investigar o impacto da sinalização purinérgica no perfil inflamatório de mulheres com diagnóstico citopatológico de HSIL, por meio da análise de níveis séricos de ATP e citocinas, e da atividade e expressão gênica de enzimas e receptores purinérgicos em linfócitos e plaquetas.

### 3 Metodologia

Estudo quantitativo realizado com 38 pacientes com HSIL não tratadas e 38 mulheres saudáveis. Foram coletadas amostras de sangue periférico para: dosagem dos níveis séricos de ATP por luminescência; avaliação das atividades enzimáticas de NTPDase e ADA em linfócitos e plaquetas; determinação da atividade de CD73 em plaquetas; quantificação de citocinas Th1/Th2 por citometria de fluxo; e análise da expressão gênica de CD39, CD73 e P2X7 por RT-qPCR. Os dados foram analisados com nível de significância de  $p < 0,05$ .

<sup>1</sup> Acadêmica do curso de graduação em Enfermagem, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Chapecó, contato: [gabriela.lazzarin@estudante.uffs.edu.br](mailto:gabriela.lazzarin@estudante.uffs.edu.br).

<sup>2</sup> Grupo de Pesquisa: grupo 2.

<sup>3</sup> Acadêmica do curso de graduação em Enfermagem, Universidade Federal Fronteira Sul, *campus* Chapecó, contato: [larissa.linck@estudante.uffs.edu.br](mailto:larissa.linck@estudante.uffs.edu.br).

<sup>4</sup> Doutora em Ciências Biológicas, Universidade Federal Fronteira Sul.

<sup>5</sup> Doutora em Bioquímica Toxicológica, Universidade Federal Fronteira Sul, **Orientadora**.

#### 4 Resultados e Discussão

As pacientes com HSIL apresentaram aumento significativo dos níveis séricos de ATP (Figura 1), o que indica um estado de liberação extracelular persistente deste nucleotídeo, frequentemente associado a dano tecidual, estresse celular e ativação imune (Di Virgilio et al., 2018). Esse aumento foi acompanhado por elevação das atividades da NTPDase e da ADA em linfócitos (Figuras 2A e 2B), sugerindo uma intensificação na degradação de ATP/ADP e na remoção de adenosina, com potencial impacto tanto na modulação pró-inflamatória quanto imunossupressora do microambiente tumoral (Zimmermann et al., 2012).

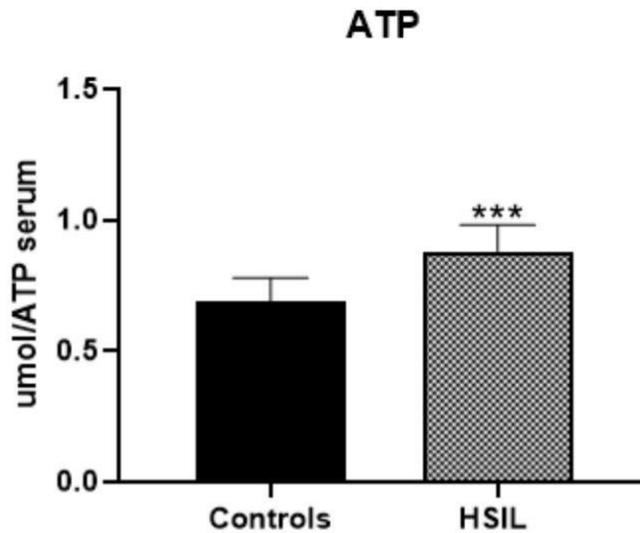
Nas plaquetas, verificou-se aumento da atividade da NTPDase (Figura 2D) e da CD73 (Figura 2E) no grupo HSIL, enquanto a ADA plaquetária apresentou valores mais elevados no grupo controle (Figura 2F). Esse padrão diferencial sugere que, embora a via de degradação de nucleotídeos esteja mais ativa no contexto de HSIL, a manutenção de níveis mais altos de adenosina nas plaquetas possa favorecer um efeito anti-inflamatório e pró-angiogênico local, o que já foi descrito como favorável à evasão imune por células neoplásicas (Allard et al., 2020).

No que se refere à expressão gênica, observou-se aumento de CD39 (Figura 3A) e P2X7 (Figura 3B) em linfócitos do grupo HSIL, sem alteração significativa na expressão de CD73 (Figura 3C). O aumento de CD39 reforça a hipótese de maior hidrólise de ATP/ADP, levando à formação de AMP e, potencialmente, adenosina — importante modulador da imunidade tumoral (Antonioli et al., 2013). Já a maior expressão de P2X7 sugere uma ativação sustentada desse receptor, cuja estimulação pode desencadear tanto a liberação de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ , quanto a indução de morte celular, dependendo do contexto e do tempo de ativação (Di Virgilio et al., 2017).

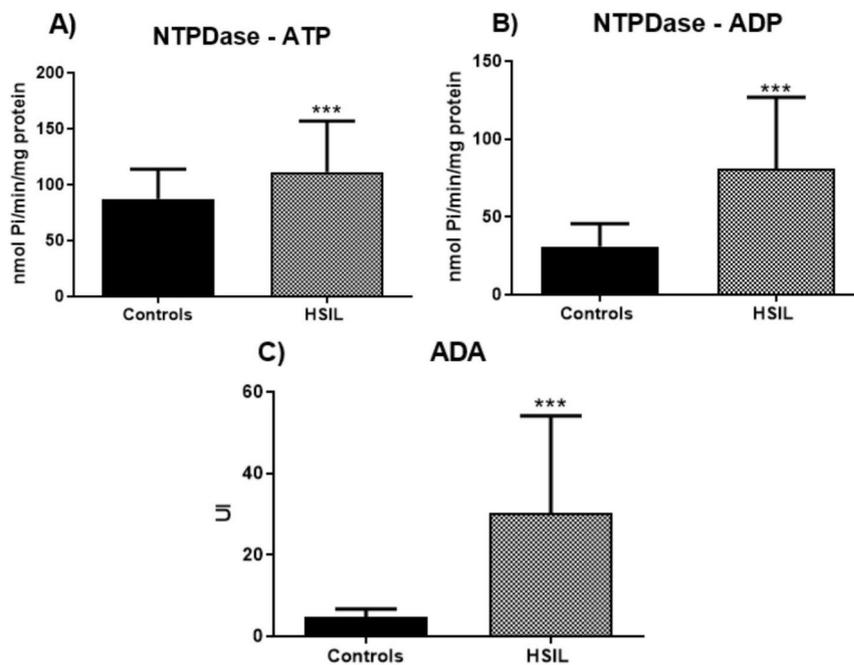
Os níveis séricos de IFN- $\gamma$  (Figura 4A), IL-4 (Figura 4B), IL-10 (Figura 4C) e TNF- $\alpha$  (Figura 4D) estavam elevados no grupo HSIL, configurando um perfil misto, no qual citocinas pró-inflamatórias coexistem com mediadores anti-inflamatórios. Tal padrão é compatível com um microambiente inflamatório crônico, marcado por resposta imune polarizada e, ao mesmo tempo, pela presença de mecanismos regulatórios que favorecem a persistência viral e a progressão da lesão (Pfaffenzeller; Franciosi; Cardoso, 2020).

De forma integrada, os dados indicam que a hidrólise aumentada de ATP e ADP, somada à ativação do receptor P2X7, está associada à liberação simultânea de mediadores pró e anti-inflamatórios. Essa combinação pode manter um estado de inflamação controlada, suficiente para sustentar um fluxo constante de sinais de crescimento e remodelação tecidual,

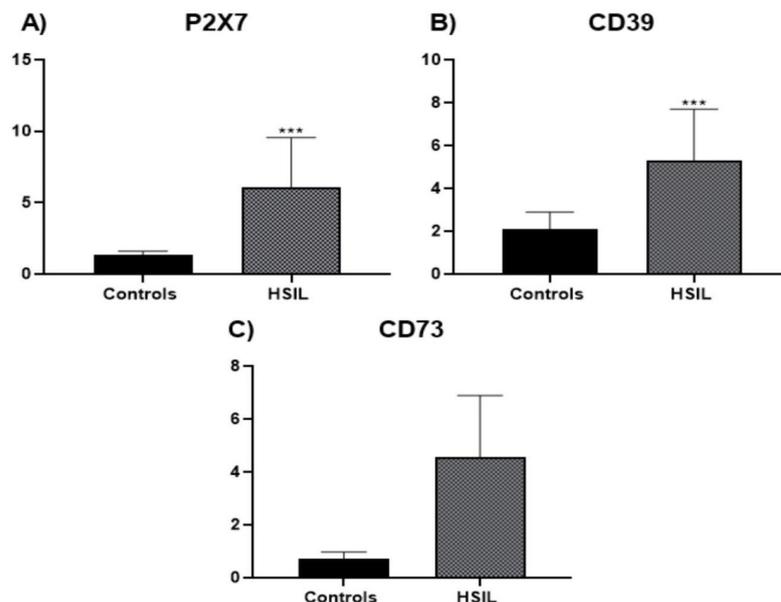
mas não capaz de eliminar completamente o HPV, contribuindo assim para a progressão tumoral.



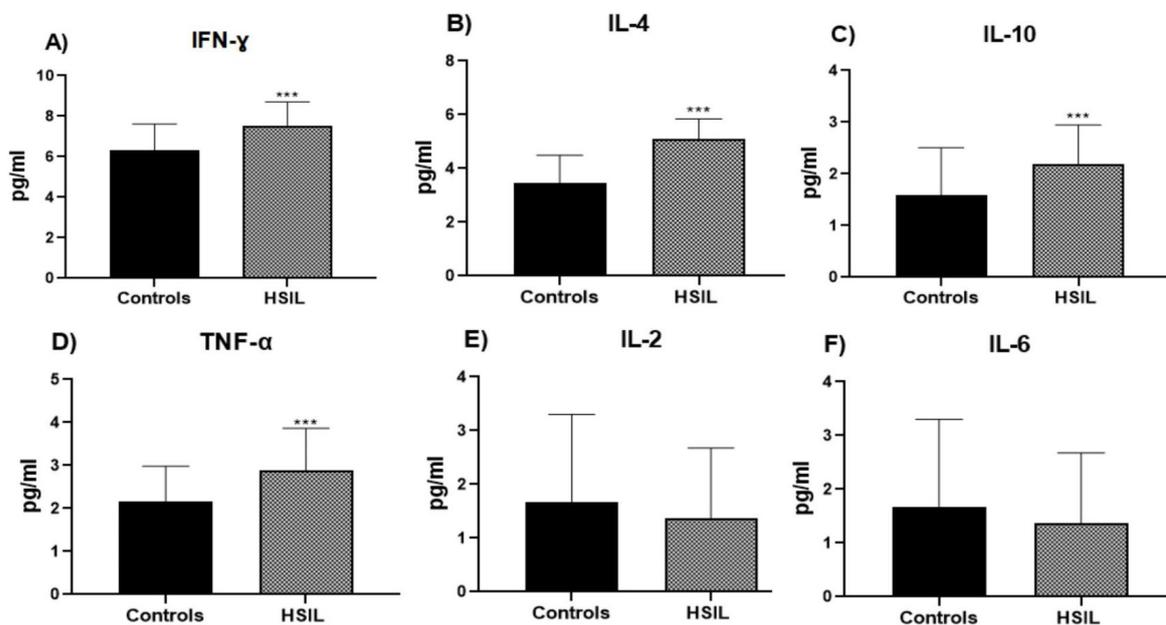
**Fig 1** - Níveis de ATP em soro dos controles comparados aos pacientes. Os dados foram comparados utilizando o teste t de Student. \*\*\* Indica  $p < 0,05$ . Os resultados são expressos como média  $\pm$  desvio padrão.



**Fig 2** - Atividade enzimática em linfócitos. A) NTPDase utilizando ATP como substrato. B) NTPDase utilizando ADP como substrato. C) ADA dos controles comparados aos pacientes. Os dados foram comparados utilizando o teste t de Student. \*\*\* Indica  $p < 0,05$ . Os resultados são expressos como média  $\pm$  desvio padrão.



**Fig 3** - Expressão gênica de componentes do sistema purinérgico em linfócitos. A) P2X7. B) CD39. C) CD73 dos controles comparados aos pacientes. Os dados foram comparados utilizando o teste t de Student. \*\*\* Indica  $p < 0,05$ . Os resultados estão apresentados como expressão relativa e estão expressos como média  $\pm$  desvio padrão.



**Fig 4** - Níveis de citocinas circulantes em soro. A) IFN- $\gamma$ . B) IL-4. C) IL-10. D) TNF- $\alpha$  dos controles comparados aos pacientes. Os dados foram comparados utilizando o teste t de Student. \*\*\* Indica  $p < 0,05$ . Os resultados são expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

## 5 Conclusão

A relação entre ATP extracelular, receptores purinérgicos e enzimas moduladoras do sistema purinérgico contribui para a criação de um ambiente inflamatório e imunossupressor em mulheres com HSIL, favorecendo o desenvolvimento e progressão do CCU (Antonioli et

al., 2013). Os resultados reforçam o potencial dessas vias como alvos terapêuticos no manejo da doença.

Os níveis elevados de ATP em pacientes com HSIL correlacionam-se com o aumento da atividade da NTPDase, resultando em maior formação de adenosina e consequente aumento da atividade da ADA. A ativação do receptor P2X7 pelo ATP estimula a liberação de citocinas pró-inflamatórias, que, apesar de favorecerem a resposta imune antitumoral, mantêm um ambiente inflamatório crônico propício à progressão da lesão. A maior atividade da ADA, associada à elevação da adenosina, está ligada à liberação de IL-10 e IL-4, que inibem respostas imunes efetoras, favorecendo a persistência viral e o avanço para carcinoma cervical. Dessa forma, a sinalização purinérgica e o perfil inflamatório contribuem significativamente para a progressão das lesões de alto grau, embora sejam necessários mais estudos para esclarecer os mecanismos envolvidos.

### Referências Bibliográficas

ALLARD, B. et al. The adenosine pathway in immuno-oncology. **Nature Reviews. Clinical Oncology**, v. 17, n. 10, p. 611–629, out. 2020.

ANTONIOLI, L. et al. CD39 and CD73 in immunity and inflammation. **Trends in Molecular Medicine**, v. 19, n. 6, p. 355–367, 2013.

DI VIRGILIO, F. et al. Extracellular ATP and P2 purinergic signalling in the tumour microenvironment. **Nature Reviews. Cancer**, v. 18, n. 10, p. 601–618, out. 2018.

DI VIRGILIO, F. et al. **The P2X7 receptor in infection and inflammation**. *Immunity*, v. 47, n. 1, p. 15–31, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.06.020>.

FRANCIOSI, M. L. M. et al. Inflammatory profile in cervical cancer: influence of purinergic signaling and possible therapeutic targets. **Inflammation Research**, v. 71, n. 5–6, p. 555–564, 2022.

PFÄFFENZELLER, M. S.; FRANCIOSI, M. L. M.; CARDOSO, A. M. Purinergic signaling and tumor microenvironment in cervical Cancer. **Purinergic Signalling**, v. 16, n. 1, p. 123–135, 2020.

SENAPATI, R.; SENAPATI, N. N.; DWIBEDI, B. Molecular mechanisms of HPV mediated neoplastic progression. **Infectious Agents and Cancer**, v. 11, p. 59, 2016.

ZIMMERMANN, H.; ZEBISCH, M.; STRÄTER, N. Cellular function and molecular structure of ecto-nucleotidases. **Purinergic Signalling**, v. 8, n. 3, p. 437–502, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11302-012-9309-4>.

**Palavras-chave:** HPV; lesão cervical de alto grau; sistema purinérgico; citocinas; inflamação.

**Nº de Registro no sistema Prisma:** PES-2024-0528

Financiamento