

## **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE E EXPRESSÃO DE COMPONENTES DO SISTEMA PURINÉRGICO EM LINFÓCITOS E PLAQUETAS DE PACIENTES COM ADENOCARCINOMA COLORRETAL ESPORÁDICO**

**MAURO NICOLLAS OLIVEIRA SILVERIO<sup>1,2\*</sup>, MATHEUS PELINSKI DA SILVEIRA<sup>2,3</sup>, JOÃO PAULO DAL MAGRO MOCELLIN<sup>2,4</sup>, DANIELA ZANINI<sup>2,5</sup>, ANDRÉIA MACHADO CARDOSO<sup>2,6</sup>**

### **1 Introdução/Justificativa**

O câncer colorretal esporádico (CCR) é um dos subtipos de câncer com maior incidência e mortalidade, tornando-se um problema de saúde pública na população brasileira. Segundo dados do Sistema de Informações de Mortalidade (SIM) do Ministério da Saúde, no município de Chapecó (SC) as neoplasias representaram a segunda causa principal de óbitos (dados de 2012 a 2016). Os linfócitos, importantes células da inflamação moduladora dos tumores, são ricos em componentes do sistema purinérgico, que corresponde a um conjunto de enzimas e receptores e que utiliza nucleotídeos e nucleosídeos de adenina como substrato (LEDDEROSE, C. et al., 2018). A relação entre a liberação de nucleotídeos para o meio extracelular, realizada pelos tumores, e a resposta imune é bastante discutida na comunidade científica (DI VIRGILIO, ADINOLFI, 2016). No entanto, pouco se conhece sobre as características dos linfócitos relacionadas ao sistema purinérgico no câncer, que é motivo desse estudo. Dessa forma, a presente pesquisa busca compreender as relações entre o CCR e o sistema purinérgico, conhecimento de fundamental importância para o diagnóstico e tratamento dessa doença, buscando diminuir a mortalidade e reduzir os gastos públicos.

### **2 Objetivos**

O objetivo do presente estudo é avaliar a atividade das enzimas (E-NTPDases) envolvidas na

- 1 Acadêmico do curso de Medicina e Bolsista em Iniciação Científica, **Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó**, contato: **mauro-nicollas@outlook.com**
- 2 Grupo de Pesquisa: Estudos Biológicos e Clínicos em Patologias Humanas
- 3 Acadêmico do curso de Medicina, **Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó**, contato: **matheuspelinski@gmail.com**
- 4 Acadêmico do curso de Medicina, **Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó**, contato: **jpdalmocellin@gmail.com**
- 5 Doutora em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica, docente do curso de medicina da **Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Chapecó**
- 6 Doutora em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica, docente do curso de medicina da **Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Chapecó, Orientadora.**

degradação dos nucleotídeos e nucleosídeos de adenina em linfócitos de pacientes diagnosticados com CCR esporádico do subtipo histológico adenocarcinoma, e em indivíduos controles saudáveis.

### 3 Metodologia

Atualmente a pesquisa conta com n de 14 pacientes e 10 controles, totalizando 24 participantes. Os linfócitos das amostras foram separados utilizando-se a técnica descrita por Böyum et al. (1968). A concentração das enzimas nos linfócitos foi determinada pelo método de Bradford (1976) e ajustada para o intervalo entre 0,1 e 0,2 mg/mL. A atividade da enzima CD39 em linfócitos foi determinada como previamente descrito por Leal et al. (2005). Os dados foram submetidos a tratamento estatístico pelo programa GraphPad Prism 7.

### 4 Resultados e Discussão

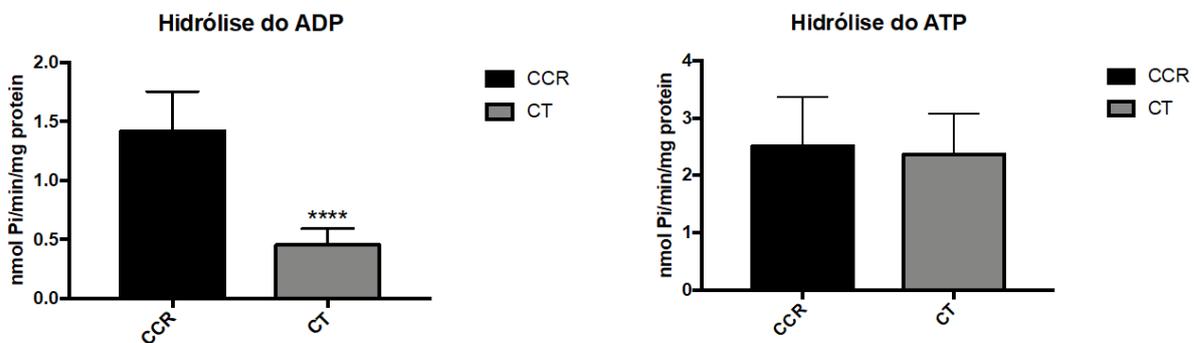
O grupo experimental consiste em 14 pacientes com CCR, em ambos os sexos (7 mulheres, 7 homens) e o grupo controle consiste em 10 pessoas saudáveis (5 mulheres e 5 homens), cujas características estão apresentadas na **Tabela 1**. Os resultados obtidos para a hidrólise de ADP e ATP estão apresentados na **Figura 1**, demonstrando que a atividade da E-NTPDase em linfócitos está alterada em pacientes com CCR. A hidrólise do ADP está aumentada nos pacientes com CCR em relação ao grupo controle ( $1.41 \pm 0.08$  vs.  $0.45 \pm 0.04$  nmol Pi/min/mg de proteína, respectivamente). A hidrólise do ATP não apresentou diferenças estatisticamente significantes no grupo de pacientes com CCR em relação ao grupo controle ( $2.50 \pm 0.23$  vs.  $2.36 \pm 0.22$  nmol Pi/min/mg de proteína, respectivamente).

Os linfócitos T exercem importantes funções homeostáticas na mucosa intestinal saudável, enquanto que no caso de câncer colorretal, a circulação e a infiltração de linfócitos T no tumor é crucial para uma resposta imune antitumoral efetiva (LÖFROOS et al., 2017). Em ambas as situações, os linfócitos infiltrados interagem com os nucleotídeos e nucleosídeos de adenina presentes no fluido intersticial, seja pela hidrólise realizada por suas E-NTPDases, seja pela ligação aos seus receptores purinérgicos de superfície. O ATP age como imunoativador, ligando-se a receptores como o P2X7 em células dendríticas, que por sua vez ativam os linfócitos via IL-1 $\beta$ . O produto da hidrólise pelas E-NTPDases é o AMP, que pode ser hidrolisado pela enzima 5'-ectonucleotidase, também expressa na superfície externa dos linfócitos, produzindo adenosina. A adenosina exerce papel imunossupressor ao se ligar, por exemplo, ao receptor P1 dos linfócitos T (DI VIRGILIO et. al., 2012). Dessa forma, o

aumento da hidrólise do ADP pode estar associado ao aumento da produção de adenosina, produzindo uma imunossupressão favorável à proliferação tumoral.

### 5 Conclusão

A atividade da enzima E-NTPDase está aumentada em pacientes com CCR em relação aos indivíduos saudáveis. Esse fator pode estar associado ao aumento da produção de adenosina no meio intersticial, que promove imunossupressão dos linfócitos e, conseqüentemente, favorece o crescimento do tumor. Ressalta-se que esses são resultados preliminares e que o estudo completo contará com um n de 40 pacientes e 40 controles, tornando as estimativas ainda mais precisas.



**Figura 1.** Atividade da enzima Ectonucleosídeo trifosfato difosforilase (E-NTPDase), demonstrando hidrólise do ATP e do ADP em linfócitos de pacientes com CCR e controle.  $P < 0.05$ ,  $n = 24$ .

	Pacientes	Controle
Idade	entre 30 e 39 anos: 7,14% entre 40 e 49 anos: 7,14% entre 50 e 59 anos: 42,85% entre 60 e 69 anos: 21,42% entre 70 e 79 anos: 21,42%	entre 30 e 39 anos: 10% entre 40 e 49 anos: 20% entre 50 e 59 anos: 50% entre 60 e 69 anos: 10% entre 70 e 79 anos: 10%
Sexo	masculino: 50% feminino: 50%	masculino: 50% feminino: 50%
Estadiamento	Tis: 0% T1: 0% T2: 11,12% T3: 88,88% T4: 0% NX: 11,11% N0: 44,44% N1: 33,33% N2: 11,11% MX: 40% M0: 50% M1: 10%	NSA

**Tabela 1.** Características gerais dos pacientes e controles em porcentagem, incluindo idade em faixas estárias, sexo e o estadiamento tumoral dos pacientes.



## Referências

DI VIRGILIO, F. et al. Purines, Purinergic Receptors, and Cancer. American Association for Cancer Research, 2012.

DI VIRGILIO, F.; ADINOLFI, E. Extracellular purines, purinergic receptors and tumor growth. *Oncogene*, v. 36, p. 1-11, 2017.

LEDDEROSE, C. et al. Purinergic P2X4 receptors and mitochondrial ATP production regulate T cell migration. *J Clin Invest*. 2018.

LÖFROOS, A.B. et al. Colorectal cancer-infiltrating T lymphocytes display a distinct chemokine receptor expression profile. *European Journal of Medical Research*, 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro, 2018.

**Palavras-chave:** Câncer Colorretal; Sistema Purinérgico; Linfócitos; Atividade Enzimática.

## Financiamento

Bolsa concedida pela UFFS.