

ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA DE PURINORECEPTORES EM PACIENTES COM CÂNCER COLORRETAL

EMANOELY ANZILIERO LOPES^{1,2*}, JACIRA BATISTA DE OLIVEIRA³, SARAH FRANCO DE OLIVEIRA MACIEL⁴, MARCELO ZENI⁵, DANIELA ZANINI^{2,6}

1 Introdução

O câncer colorretal (CCR) é uma patologia de elevada complexidade caracterizada pelo crescimento desordenado das células que compõem o cólon e o reto. Em escala global, o CCR ocupa a terceira posição entre os tumores mais frequentemente diagnosticados em homens e a segunda em mulheres, demonstrando taxas de incidência e mortalidade continuamente ascendentes (ABAR et al., 2018). No contexto brasileiro, o CCR figura como uma das neoplasias de maior prevalência, classificando-se como o terceiro tipo tumoral mais comum (BRASIL, 2019).

Recentemente, tem-se destacado a relevância do sistema purinérgico, que engloba enzimas responsáveis pela hidrólise de trifosfato de adenosina (ATP), difosfato de adenosina (ADP) e monofosfato de adenosina (AMP), no que concerne à progressão do CCR (ABBACCHIO; BURNSTOCK, 1994). Diante disso, a investigação das vias patofisiológicas relacionadas ao desenvolvimento do CCR, incluindo a contribuição do sistema purinérgico, emerge como uma tarefa de extrema importância. Esse empreendimento visa não somente a compreensão aprofundada das bases moleculares subjacentes à doença, mas também o estabelecimento de fundamentos para o desenvolvimento de estratégias preventivas, métodos de diagnóstico aprimorados e abordagens de controle mais eficazes no contexto dos tumores colorretais (DI VIRGILIO, 2012).

1Graduação em Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus Chapecó*, contato: emanoely.lobes@estudante.uffs.edu.br

2Grupo de Pesquisa: XXX

3Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas, Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó, Brasil

4Professora Doutora em Medicina e Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas, Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó, Brasil.

5Professor Mestre em Cirurgia do curso de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó, Brasil.

6Professora Doutora em Medicina e Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas, Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó, Brasil. **Orientadora.**

2 Objetivos

O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade das enzimas do sistema purinérgico - E-NTPDase (CD39), ecto-5'-nucleotidase (CD73) e adenosina desaminase (ADA) - em plaquetas de pacientes diagnosticados com CCR esporádico do subtipo histológico adenocarcinoma, comparando a pacientes saudáveis.

3 Metodologia

Este estudo transversal de caso-controle envolveu um total de 60 participantes, divididos em dois grupos distintos. O primeiro grupo foi composto por 30 pacientes diagnosticados com adenocarcinoma colorretal esporádico, enquanto o segundo grupo consistia em 30 indivíduos saudáveis que desempenharam o papel de grupo controle. A seleção dos participantes foi conduzida utilizando uma abordagem de conveniência, com base em critérios de inclusão e exclusão claramente definidos.

Para garantir a homogeneidade da amostra, foram selecionados pacientes recém-diagnosticados, que ainda não haviam iniciado qualquer forma de tratamento cirúrgico ou farmacológico. A identificação e recrutamento dos pacientes ocorreram mediante colaboração prévia dos pesquisadores com um médico-cirurgião oncológico responsável pela avaliação dos pacientes no Hospital Regional do Oeste (HRO). Todos os participantes foram devidamente informados sobre os objetivos da pesquisa, bem como sobre todas as intervenções que seriam realizadas, e expressaram seu consentimento voluntário ao assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

A coleta de amostras sanguíneas, consistindo em 30 ml de sangue, foi realizada por meio de punção venosa utilizando tubos vacutainer padrão. As análises bioquímicas subsequentes foram conduzidas nos laboratórios de pesquisa da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS). A avaliação da atividade enzimática do sistema purinérgico foi conduzida nas amostras de plaquetas dos participantes. A atividade das enzimas E-NTPDase (CD39) e E-5'-nucleotidase (CD73) foi determinada conforme o protocolo descrito por Pilla et al. (1996), com modificações seguindo o método de Lunkes et al. (2003). A atividade da adenosina desaminase (ADA) foi determinada conforme as diretrizes estabelecidas por Giusti e Galanti (1984).

A análise estatística dos dados foi conduzida utilizando o Teste t de Student, com resultados considerados estatisticamente significativos quando $p \leq 0,05$. Todos os

procedimentos realizados neste estudo foram submetidos à aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), segundo as normas estabelecidas na Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde referente à pesquisa envolvendo seres humanos (BRASIL, 2012).

4 Resultados e Discussão

Os resultados obtidos nesta pesquisa revelaram diferenças significativas na atividade da enzima E-NTPDase (CD39), responsável pela hidrólise do trifosfato de adenosina (ATP) e difosfato de adenosina (ADP), entre pacientes com câncer colorretal (CCR) e o grupo de controle. A atividade da CD39 para a hidrólise do ATP foi notavelmente elevada nos pacientes com CCR em comparação com o grupo controle ($78,90 \pm 9,60$ vs $35,86 \pm 4,62$ nmol Pi/min/mg de proteína, respectivamente; $p \leq 0,0005$). Semelhante padrão foi observado na hidrólise do ADP, onde os pacientes com CCR exibiram uma atividade enzimática superior em relação ao grupo de controle ($123,10 \pm 14,84$ vs. $84,68 \pm 9,88$ nmol Pi/min/mg de proteína; $p \leq 0,05$).

O aumento na atividade enzimática da CD39 pode estar associada a um aumento na disponibilidade de ATP extracelular, o qual é substrato da enzima, indica maior disponibilidade de ATP extracelular e maior conversão deste para adenosina. Tendo em vista que a progressão tumoral associa-se a danos e lise celular, podemos sugerir que na presença de tumores os níveis de ATP estejam substancialmente elevados, colaborando para a atividade enzimática máxima (DI VIRGILIO, 2012). Tendo em vista da atuação pró-inflamatória do ATP, podemos relacionar o ambiente tumoral ao estado pró-inflamatório sistêmico deste paciente, uma vez que o ATP liga-se a receptores do sistema purinérgico ativando células do sistema imune (CARDOSO et al., 2021).

Nesse contexto, o aumento da hidrólise de ATP favorece a geração de AMP através do aumento da atividade da 5'-nucleotidase, a qual favorece a geração de grandes quantidades de adenosina - uma molécula com potente ação imunossupressora. A adenosina atua como moléculas sinalizadora, também se ligando às células do sistema imune, no entanto, atua desativando-as e conseqüentemente, promovendo um ambiente imunossuprimido, auxiliando na progressão da neoplasia (DI VIRGILIO et al., 2018). Essa descoberta é consistente com estudos anteriores que associam níveis elevados de adenosina a um ambiente tumoral favorável ao crescimento do câncer (DO CARMO ARAÚJO et al., 2005)(DI VIRGILIO et

al., 2018). Além disso, a atividade da E-NTPDase para a hidrólise do ADP também foi significativamente maior nos pacientes com CCR em comparação com os controles, fortalecendo a hipótese de uma possível desregulação na via de sinalização purinérgica no CCR, contribuindo para condições favoráveis ao desenvolvimento tumoral (DI VIRGILIO et al., 2018).

A análise da hidrólise de monofosfato de adenosina (AMP), medida pela atividade da E-5'-nucleotidase (CD73), também revelou uma maior atividade hidrolítica no grupo de pacientes com CCR em comparação com o grupo controle ($86,92 \pm 13,89$ vs. $19,96 \pm 3,16$ nmol Pi/min/mg de proteína; $p \leq 0,0005$), também associando-se a maior produção de adenosina. Em contraste, a atividade da adenosina desaminase (ADA) não apresentou diferença estatisticamente significativa entre o grupo de pacientes com CCR e o grupo controle ($2,52 \pm 0,49$ vs. $2,03 \pm 0,47$ UI/mg de proteína, respectivamente). Isso sugere que, apesar do aumento na hidrólise de ATP, ADP e AMP, a taxa de degradação da adenosina não é significativamente afetada no CCR, culminando em maior concentração de adenosina extracelular e mais facilidade na progressão neoplásica (DI VIRGILIO et al., 2018).

5 Conclusão

Com base nos resultados deste estudo, podemos concluir que a atividade das enzimas do sistema purinérgico, E-NTPDase e a E-5'-nucleotidase, manifesta significativas alterações em pacientes diagnosticados com câncer colorretal (CCR). O aumento na atividade da E-NTPDase no que diz respeito à hidrólise de ATP e ADP, bem como a intensificação da atividade da E-5'-nucleotidase na hidrólise de AMP, indica uma possível aceleração na degradação desses nucleotídeos, resultando em um aumento notório na disponibilidade de adenosina. Este mediador celular, com conhecidas propriedades anti-inflamatórias e pró-tumorais, pode desempenhar um papel significativo na criação de um ambiente tumoral propício ao desenvolvimento do câncer colorretal.

Entretanto, é importante notar que a atividade da adenosina desaminase (ADA) não exibiu diferenças substanciais entre os pacientes com CCR e o grupo de controle, indicando que a taxa de degradação da adenosina não é significativamente afetada no contexto do câncer colorretal. Estes resultados reforçam a relevância crucial do sistema purinérgico na patogênese do câncer colorretal, fornecendo uma base para novos estudos e a consideração de novas estratégias terapêuticas.

Referências Bibliográficas

ABAR, L. et al. Height and body fatness and colorectal cancer risk: an update of the WCRF-AICR systematic review of published prospective studies. *European Journal of Nutrition*, v. 57, n. 5, p. 1701–1720, ago. 2018.

ABBACCHIO, M. P.; BURNSTOCK, G. Purinoceptors: are there families of P2X and P2Y purinoceptors? *Pharmacology & Therapeutics*, v. 64, n. 3, p. 445–475, 1994.

ACOSTA MALDONADO, P. et al. Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase (E-NPP) and adenosine deaminase (ADA) activities in patients with uterine cervix neoplasia. *Clinical Biochemistry*, v. 41, n. 6, p. 400–406, abr. 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Tipos de Câncer- Câncer de Intestino. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde, 2019.

BRASIL, Ministério. Da Saúde. 466. Conselho Nacional de Saúde. 2012.

CARDOSO, A. M. et al. Sinalização purinérgica e suas implicações fisiológicas. Em: CARDOSO, A. M.; MANFREDI, L. H.; MACIEL, S. F. V. D. O. (Eds.). **Sinalização purinérgica: implicações fisiopatológicas**. [s.l.] Editora UFFS, 2021. p. 15–27.

DI VIRGILIO, F. Purines, purinergic receptors, and cancer. **Cancer Research**, v. 72, n. 21, p. 5441–5447, 1 nov. 2012.

DO CARMO ARAÚJO, M. et al. Enzymes that hydrolyze adenine nucleotides in platelets from breast cancer patients. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1740, n. 3, p. 421–426, 10 jun. 2005.

SCHETINGER, M. R. C. et al. NTPDase and 5'-nucleotidase activities in physiological and disease conditions: new perspectives for human health. *BioFactors (Oxford, England)*, v. 31, n. 2, p. 77–98, 2007.

ZHANG, X.; MOSSER, D. M. Macrophage activation by endogenous danger signals. *The Journal of Pathology*, v. 214, n. 2, p. 161–178, jan. 2008.

Palavras-chave: sistema purinérgico, câncer colorretal, inflamação.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2022-0436

Financiamento: UFFS