**AVALIAÇÃO DA SINALIZAÇÃO PURINÉRGICA E DE PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS EM COMPONENTES SANGUÍNEOS DE PACIENTES COM CÂNCER DE COLO UTERINO**

**PAULA CAMARA LIMA FARIA[[1]](#footnote-1),[[2]](#footnote-2)\*, GABRIELA PALÚ [[3]](#footnote-3), ANDRÉIA MACHADO CARDOSO2,[[4]](#footnote-4)**

**1 Introdução**

O câncer de colo de útero (CCU) caracteriza-se como o quarto tipo de câncer com maior incidência na população mundial do sexo feminino. Já no cenário Brasileiro o CCU apresentou 18.715 novos casos no ano de 2022, com mortalidade de 9.905 em números absolutos no mesmo ano (GLOBOCAN, 2024).

O CCU tem como fator etiológico a infecção persistente de um dos tipos carcinogênicos do papilomavírus humano (HPV) (FRANCIOSI et al., 2022). Nesse tipo de câncer, a constante infecção pelo HPV pode gerar lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (HSIL). As HSIL são definidas como lesões pré-cancerígenas, ou seja, com potencial para tornar-se um câncer invasivo (SENAPATI; DWIBEDI, 2016).

É sabido que o desenvolvimento de diferentes tipos de neoplasias envolve um estado inflamatório crônico e intenso (FRANCIOSI et al., 2022). O microambiente do CCU tem concentrações elevadas de ATP e adenosina que ativam cascatas imunológicas e inflamatórias (FRANCIOSI et al., 2022). O ATP, além de agir como um padrão molecular associado ao dano (DAMP), atua também em receptores presentes nas células imunes, especialmente o P2X7 e o A2A (PFAFFENZELLER; FRANCIOSI; CARDOSO, 2020). Estimulando assim, a liberação de citocinas pró-inflamatórios como TNF-α e IFN-ɣ (FRANCIOSI et al., 2022). Tais citocinas têm tanto ação imunológica antitumoral, quanto incitam a angiogênese, o crescimento celular e a metástase (HU et al., 2015; ZUO et al., 2011).

Todavia, o ATP também desencadeia a imunossupressão pelo acúmulo de adenosina. Esta, por sua vez, estimula a produção de citocinas imunossupressoras como IL-10 e IL-4, permitindo a progressão tumoral (CONTICELLO et al., 2004; DI VIRGILIO et al., 2018; FRANCIOSI et al., 2022).

Sendo assim, é importante compreender a forte relação entre sinalização purinérgica e perfil inflamatório no desenvolvimento e progressão do CCU.

**2 Objetivos**

Analisar a atividade e expressão de componentes do sistema purinérgico, os níveis séricos de ATP e citocinas em pacientes com diagnóstico de CCU e em indivíduos controle.

**3 Metodologia**

A pesquisa caracteriza-se por um estudo experimental quantitativo. Foram incluídas no estudo 38 pacientes voluntárias entre 18 e 65 anos, com resultado de exame citopatológico de HSIL, e que não realizaram tratamento prévio. O grupo controle foi composto de 38 voluntárias saudáveis na mesma faixa etária. Todos os procedimentos realizados durante a pesquisa foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UFFS, sob parecer número 3.333.426.

Ambos os grupos foram submetidos à coleta única de sangue periférico, para analisar a expressão gênica e a atividade das enzimas NTPDase (CD39), Ecto-5’-nucleotidase (CD73) e adenosina deaminase (ADA) e o receptor purinérgico P2X7; e os níveis séricos de ATP e das citocinas IFN-ɣ, IL-4, IL-10, IL-2, IL-6 e TNF-α. Após a realização dos experimentos, os dados foram avaliados estatisticamente pela realização do teste de Shapiro-Wilk e Testet não pareado. O nível de significância utilizado foi de p<0,05 em todas as análises. O programautilizado foi o GraphPad® Prism 8.1.

**4 Resultados e Discussão**

Os resultados do estudo estão compilados na Tabela 01.

Tabela 01 - Resultados das análises laboratoriais realizadas

Tela de computador com texto preto sobre fundo branco

Descrição gerada automaticamente

Acerca da atividade enzimática e níveis de ATP, foi observado um aumento estatisticamente significativo nos níveis de ATP e na atividade e expressão da enzima CD39, importante enzima do sistema purinérgico responsável pela hidrólise do ATP e ADP, utilizando tanto ATP quanto ADP como substrato em mulheres com HSIL em relação às mulheres saudáveis. Como a principal função da CD39 é hidrolisar o ATP, é possível correlacionar sua atividade aumentada com uma maior concentração de ATP. Paralelo a isso, a expressão aumentada dessa enzima é estimulada em resposta ao processo inflamatório, como o que ocorre no microambiente do CCU (DI VIRGILIO et al., 2018). Associado a isso, diversos estudos foram feitos relacionando o aumento da atividade da NTPDase ao desenvolvimento de diversos tipos de câncer (BAGHBANI et al., 2021).

Em relação a enzima ADA, foi encontrado um aumento da sua atividade no grupo de pacientes em comparação ao grupo controle. A ADA realiza importante papel na regulação dos níveis de adenosina, que é um nucleosídeo responsável pelo aumento de diversas citocinas, como a IL-10, levando à inibição da resposta imune antitumoral (PFAFFENZELLER; FRANCIOSI; CARDOSO, 2020). Ademais, é possível relacionar a atividade da ADA aumentada com uma alta concentração de adenosina no microambiente tumoral, uma vez que a adenosina é o substrato desta enzima, e sua produção é decorrente da hidrólise do ATP. A pesquisa de Maldonado e colaboradores (2008) demonstrou que a atividade da ADA diminuiu em mulheres que foram tratadas para infecção pelo HPV, devido ao menor acúmulo de adenosina, consequência da diminuição da inflamação e hidrolise de ATP.

Em relação a expressão gênica da enzima CD73, não foi observada uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Já sobre a expressão gênica do receptor P2X7, foi encontrado uma expressão aumentada em mulheres com HSIL quando comparado com o grupo controle. Tal resultado é consonante com os outros resultados encontrados neste estudo, visto que o ATP é a principal molécula ativadora desse receptor (FRANCIOSI et al., 2022). Além disso, a ativação do P2X7 leva ao aumento da inflamação no microambiente tumoral e angiogênese, favorecendo a progressão tumoral (FRANCIOSI et al., 2022).

Acerca dos níveis de citocinas, os resultados encontrados para IL-2 e IL-6 não foram estatisticamente significativos. Sobre o IFN-ɣ, TNF-α, IL-4 e IL-10, seus níveis estavam aumentados em mulheres com HSIL, quando comparadas ao grupo controle. O IFN-ɣ e TNF-α são citocinas com uma ação pró-inflamatória. Ambas são produzidas por células Th1, macrófagos e células NK (FRANCIOSI et al., 2022). Tal fato se correlaciona de maneira positiva com os níveis de ATP aumentado encontrado nesta pesquisa, visto que o ATP ativa essas células imunes e estimula a secreção de tais citocinas. Corroborando esses achados, os estudos de Furuta et al. (2023) e Shieh et al. (2014) observaram um aumento destas citocinas quando células imunes eram estimuladas com ATP. Associado a isso, diversos estudos demonstraram que com o desenvolvimento da HSIL e sua progressão tanto o IFN-ɣ quanto o TNF-α promovem o estímulo a metástase e crescimento celular descontrolado favorecendo o desenvolvimento do CCU (HU et al., 2015; ZUO et al., 2011).

A IL-4 e IL-10 são citocinas capazes de promover imunossupressão, inibir a apoptose e a resposta imune antitumoral (CONTICELLO et al., 2004). O aumento na concentração dessas citocinas se deve aos maiores níveis de adenosina e ATP, uma vez que estes favorecem a ativação de células imunes (LA SALA et al., 2001). Paralelo a isso, a IL-10 regula negativamente o sistema antígenos leucocitários humano de classe I (HLAI), que inibe a resposta imune antitumoral, permitindo uma evasão imunológica tumoral e consequentemente a progressão do CCU (PFAFFENZELLER; FRANCIOSI; CARDOSO, 2020).

**5 Conclusão**

Foi visto que o aumento dos níveis de ATP está positivamente relacionado com a maior atividade e expressão da NTPDase, o que leva a uma concentração elevada de adenosina e contribui para a atividade aumentada da ADA. O ATP, através do P2X7, também estimula a liberação de citocinas pró-inflamatórias, que, embora favoreçam uma resposta imune antitumoral, criam um ambiente inflamatório crônico propício ao desenvolvimento e progressão da lesão. Além disso, a adenosina está associada à liberação de IL-10 e IL-4 e à inibição de respostas imunes antitumorais. Conclui-se que a forte relação entre a sinalização purinérgica e o perfil inflamatório em mulheres com HSIL impacta significativamente o desenvolvimento e progressão do câncer de colo de útero.

**Referências Bibliográficas**

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.

BAGHBANI, E. et al. Regulation of immune responses through CD39 and CD73 in cancer: Novel checkpoints. **Life Sciences**, v. 282, p. 119826, 1 out. 2021.

**Cancer Today**. Disponível em: <https://gco.iarc.who.int/today/>.

CONTICELLO, C. et al. IL-4 Protects Tumor Cells from Anti-CD95 and Chemotherapeutic Agents via Up-Regulation of Antiapoptotic Proteins1. **The Journal of Immunology**, v. 172, n. 9, p. 5467–5477, 1 maio 2004.

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.

FRANCIOSI, M. L. M. et al. Inflammatory profile in cervical cancer: influence of purinergic signaling and possible therapeutic targets. **Inflammation Research: Official Journal of the European Histamine Research Society** ... [et Al.], v. 71, n. 5–6, p. 555–564, jun. 2022.

FURUTA, K. et al. ATP and its metabolite adenosine cooperatively upregulate the antigen-presenting molecules on dendritic cells leading to IFN-γ production by T cells. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 299, n. 4, p. 104587, 6 mar. 2023.

HU, T. et al. Accumulation of invariant NKT cells with increased IFN-γ production in persistent high-risk HPV-infected high-grade cervical intraepithelial neoplasia. **Diagnostic Pathology**, v. 10, p. 20, 2 abr. 2015.

LA SALA, A. et al. Extracellular ATP Induces a Distorted Maturation of Dendritic Cells and Inhibits Their Capacity to Initiate Th1 Responses1. **The Journal of Immunology**, v. 166, n. 3, p. 1611–1617, 1 fev. 2001.

PFAFFENZELLER, 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, mar. 2020.

SENAPATI, R.; SENAPATI, N. N.; DWIBEDI, B. Molecular mechanisms of HPV mediated neoplastic progression. **Infectious Agents and Cancer**, v. 11, p. 59, 25 nov. 2016.

SHIEH, C.-H. et al. P2X7-dependent, but differentially regulated release of IL-6, CCL2, and TNF-α in cultured mouse microglia. **Glia**, v. 62, n. 4, p. 592–607, abr. 2014.

ZUO, F. et al. Association of TNF-α Gene Promoter Polymorphisms with Susceptibility of Cervical Cancer in Southwest China. **Laboratory Medicine**, v. 42, n. 5, p. 287–290, 1 maio 2011

**Palavras-chave**: HPV, câncer de colo uterino, inflamação, sistema purinérgico

**Nº de Registro no sistema Prisma:** PES-2023-0441

**Financiamento:** CNPq

1. Acadêmica de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Chapecó, contato: paula.faria@estudante.edu.uffs.br [↑](#footnote-ref-1)
2. Grupo de Pesquisa: Estudos biológicos e clínicos em patologias humanas [↑](#footnote-ref-2)
3. Acadêmica de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Chapecó. [↑](#footnote-ref-3)
4. Doutora em Bioquímica Toxicológica, docente do Curso de Medicina e de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas da Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Chapecó, **Orientadora**. [↑](#footnote-ref-4)