



AVALIAÇÃO DO SISTEMA PURINÉRGICO E DE MARCADORES INFLAMATÓRIOS EM PACIENTES SUBMETIDOS À RESSECÇÃO CIRÚRGICA DE PITNETS

Luiz Alberto de Oliveira

Mestrando no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) e bolsista do CNPq

Margarete Dulce Bagatini

Professora, Doutora em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) Margarete.bagatini@uffs.edu.br

1. Introdução

Os adenomas hipofisários, conhecidos como tumores neuroendócrinos pituitários (PitNETs), são neoplasias localizadas na região selar, originadas no lobo anterior da glândula pituitária (Melmed et al., 2022). Seu desenvolvimento decorre de mutações somáticas ou germinativas em células endócrinas, podendo causar instabilidade cromossômica, senescência celular e desregulação hormonal (De Sousa et al., 2023). Com o avanço das técnicas diagnósticas e de imagem, observou-se um aumento significativo na detecção de novos casos de PitNETs. As manifestações clínicas refletem seu espectro fenotípico diversificado, podendo comprimir estruturas adjacentes, invadir o seio cavernoso e causar sintomas como déficits visuais, diplopia e cefaleia (Mota et al., 2024).

Em 2022, a Organização Mundial da Saúde (OMS) atualizou a classificação dos PitNETs, priorizando a linhagem celular dos tumores em vez de sua produção hormonal (De Sousa, 2023). A nova abordagem considera aspectos morfológicos, moleculares e clínicos, incluindo o uso de imuno-histoquímica combinada com colorações especiais (Melmed et al., 2022). Nesse contexto, estudos científicos indicam que a sinalização purinérgica e os processos inflamatórios teciduais desempenham papéis fundamentais na patogênese e progressão dos tumores neuroendócrinos. Os nucleotídeos extracelulares (ATP, ADP, AMP e adenosina) regulam diversos processos biológicos por meio da cascata de hidrólise purinérgica, que modula a disponibilidade desses mediadores no meio extracelular (Di Virgilio; Adinolfi, 2017).

Embora estudos prévios tenham abordado a ação de enzimas purinérgicas no sistema nervoso em outros tumores intracranianos, ainda são escassos os dados sobre a



atuação integrada da sinalização purinérgica em PitNETs (Mota et al., 2024). Essa lacuna evidencia a necessidade de aprofundar os estudos sobre a relação entre os elementos desse sistema e os PitNETs, sobretudo por se tratar de uma condição relevante para a saúde pública, uma vez que sua incidência, morbidade e mortalidade ainda são pouco compreendidas.

Neste cenário, o presente estudo propõe investigar a atividade, expressão gênica e proteica das enzimas purinérgicas ecto-nucleosídeos trifosfato difosfohidrolase (CD39) e ecto-5'-nucleotidase (CD73) em células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) e plaquetas, bem como os níveis de ATP extracelular e de Interleucina-1 β em pacientes submetidos à ressecção cirúrgica de PitNETs.

2. Metodologia

Este estudo transversal foi desenvolvido em janeiro de 2024, no município de Chapecó, Santa Catarina–SC. A amostra foi composta por 39 indivíduos, divididos em dois grupos: pacientes (n=17) e controle (n=22). Os pacientes foram selecionados por contato prévio dos pesquisadores com o serviço de neurologia do Hospital Regional do Oeste, em Chapecó–SC. Os pacientes deveriam atender critérios, como: idade igual ou superior a 18 anos, o diagnóstico prévio de PitNETs e serem submetidos à ressecção cirúrgica do tumor entre o período de 12 a 24 meses antes desta pesquisa. Outrossim, 22 indivíduos saudáveis, sem quaisquer comorbidades, foram recrutados para compor o grupo controle. A coleta de informações e materiais biológicos ocorreu após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Foram coletadas amostras contendo de sangue venoso dos pacientes, em sala apropriada no ambulatório do HRO e nos laboratórios da Universidade Federal da Fronteira Sul — Chapecó/SC. Foi avaliada a atividade e a expressão gênica e proteica das enzimas purinérgicas CD39 e CD73 em células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) e plaquetas, bem como níveis de ATP extracelular e IL-1 β sérico. Para as análises estatísticas, a normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Em seguida foram aplicados os testes t de Student, Mann-Whitney e ANOVA One-way. O nível de significância adotado foi de 95%, e o programa estatístico usado foi o GraphPad Prism 9.0.1.



3. Resultados e discussão

Em nosso estudo, a média de idade dos indivíduos do grupo de hipófise (GH), em acompanhamento pós-ressecção cirúrgica hipofisária, foi de 57,78 anos ($\pm 13,52$), enquanto no grupo controle (GC) foi de 51,88 anos ($\pm 13,62$). No GH, observou-se predominância do sexo feminino (64,70%), ao passo que no GC houve igualdade entre os sexos (50,00%), corroborando com outros estudos epidemiológicos que apontam maior prevalência de diagnósticos em mulheres entre 20 e 50 anos.

Ao analisar a sinalização purinérgica, observou-se maior atividade das ectonucleotidases na hidrólise de nucleotídeos e adenosina em PBMCs e plaquetas. O grupo GH apresentou níveis aumentados de ATP extracelular ($p=0,0004$) e de IL-1 β sérica ($p=0,0017$), em comparação ao GC. Nesse contexto, estudos indicam que, nos estágios iniciais dos tumores, o ATP atua como sinalizador de dano celular, promovendo efeitos pró-inflamatórios que influenciam na liberação de citocinas, como IL-1 β , favorecendo a proliferação linfocitária e a resposta imune, uma vez que a interação entre interleucinas inflamatórias e a sinalização purinérgica está associada formação e progressão de um microambiente tumoral imunossupressor, corroborando com a resistência terapêutica (Ledderose et al., 2023).

Ademais, estudos indicam que, após a ressecção tumoral, os níveis extracelulares de ATP tendem a se normalizarem, uma vez que o fator causal das alterações na homeostase foi removido (Di Virgilio; Adinolfi, 2017). No entanto, em nosso estudo foi observado que os níveis permaneceram elevados, sugerindo um estado inflamatório residual mesmo após a remoção completa do PitNET. Nessa perspectiva, estudos observaram um processo pró-inflamatório persistente em melanomas, com redução da atividade enzimática e da hidrólise de nucleotídeos, mesmo diante de alta disponibilidade (Manica; Bagatini, 2021).

Além disso, foi verificado uma redução na hidrólise de ATP em PBMCs pela CD39 ($p=0,0039$) e aumento significativo da hidrólise de AMP em plaquetas pela CD73 ($p=0,0096$) no GH, comparado ao GC. Nesse contexto, embora a maior disponibilidade de ATP extracelular possa inicialmente favorecer a atividade da CD39, altas concentrações podem inibi-la por saturação enzimática, comprometendo a regulação do ATP e perpetuando o processo inflamatório (Di Virgilio; Adinolfi, 2017).

Outrossim, vale ressaltar que não houve diferenças significativas entre os grupos quanto à hidrólise de ADP e AMP em PBMCs, nem quanto à hidrólise de ATP e ADP em plaquetas.

No que se refere à expressão das enzimas purinérgicas, observou-se aumento significativo da expressão gênica ($p=0,0349$) e proteica ($p=0,0013$) da CD73, bem como da expressão proteica da CD39 ($p<0,0001$) no GH. Pesquisas evidenciam que a superexpressão de CD73 pode ocorrer em ambientes inflamatórios ou hipóxicos, promovendo a produção de adenosina como tentativa de reestabelecer a homeostase tecidual. A adenosina gerada por CD73 pode, por sua vez, induzir a expressão de CD39 como mecanismo regulador da inflamação (DI VIRGILIO; ADINOLFI, 2017). Nessa perspectiva, altos níveis de CD39 em células malignas estão relacionados à imunossupressão antitumoral, e a superexpressão de CD73 tem sido associada ao aumento da invasividade e do potencial metastático. Ademais, estudos também apontam que a alta expressão de enzimas geradoras de adenosina ou de seus receptores correlaciona-se com pior prognóstico oncológico. Em contrapartida, níveis reduzidos de expressão de CD39 estão associados a tumores em estágios iniciais e prognóstico mais favorável.

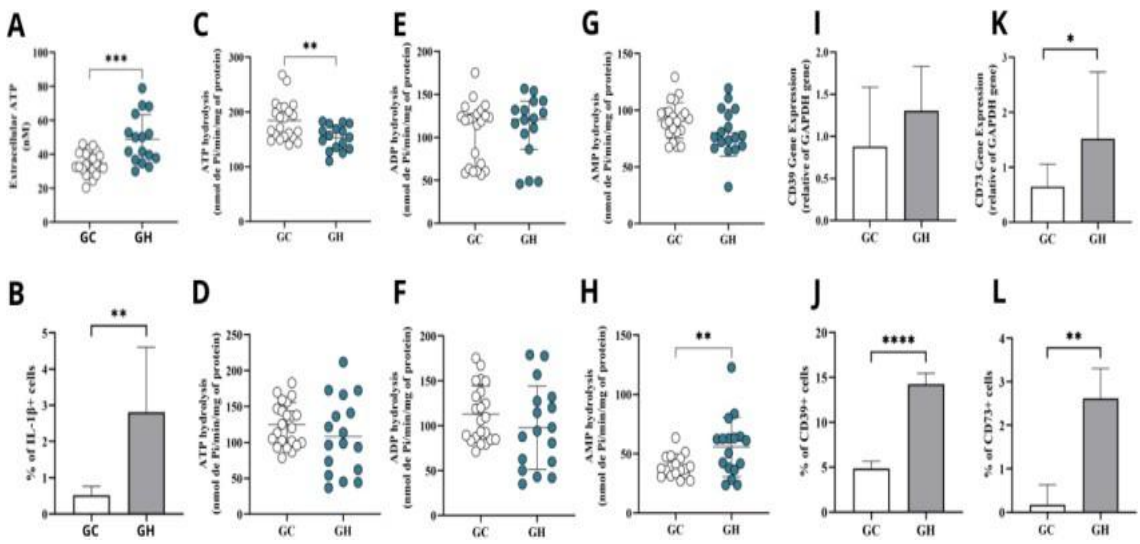


Figura 1: Os gráficos demonstram os níveis de ATP extracelular (A) e IL-1β sérica (B), a atividade das enzimas CD39 e CD73 em PBMCs (C, E, G) e em plaquetas (D, F, H), e a expressão gênica (I, K) e proteica (J, L) das enzimas CD39 e CD73, em GH e GC.

Fonte: Acervo do autor



4. Considerações finais

Os resultados demonstraram que os PitNETs, mesmo após ressecção cirúrgica, podem alterar a atividade e expressão das enzimas purinérgicas, bem como os níveis séricos de IL-1 β . O aumento da expressão e da atividade das enzimas CD39 e CD73, associado aos níveis séricos elevados de IL-1 β , pode contribuir para o desequilíbrio nos níveis extracelulares de ATP e AMP, promovendo um microambiente tumoral imunossupressor ou favorável à progressão da neoplasia. Nesse contexto, o aumento na hidrólise de AMP em plaquetas pode indicar disfunções na via de coagulação, elevando o risco de distúrbios hemostáticos e eventos trombóticos. É fundamental que os pacientes estejam cientes sobre esses possíveis efeitos adversos ao longo do tratamento. Ademais, os achados do estudo contribuem para uma melhor compreensão da sinalização purinérgica e dos processos inflamatórios atrelados aos PitNETs. Outrossim, ressalta-se a importância do desenvolvimento da criação de estudos longitudinais para a formulação de novas estratégias terapêuticas adjuvantes para o tratamento dos PitNETs.

Referências

DI VIRGILIO, Francesco; ADINOLFI, Elena. Extracellular purines, purinergic receptors and tumor growth. **Oncogenes**, v. 36, p. 1-11, 2017

LEDDEROSE, Stephan. et al. P2X1 and P2X7 Receptor Overexpression Is a Negative Predictor of Survival in Muscle-Invasive Bladder Cancer. **Cancers**, v. 15, p. 2321, 2023

MÂNICA, Aline; BAGATINI, Margarete. Melanoma cutâneo e sistema purinérgico. **Sinalização Purinérgica: Implicações Fisiopatológicas. Chapecó: UFFS**, p. 156-171, 2021

MELMED, Shlomo. et al. Clinical biology of the pituitary adenoma. **Endocrine Reviews**, v. 43, n. 6, p. 1003, dez. 2022

MOTA, Filipe Matias. et al. Impacto da imunohistoquímica no diagnóstico, tratamento e prognóstico dos adenomas hipofisários clinicamente não funcionantes, uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 7, n. 2, p. e68895-e68895, 2024

DE SOUSA, Sunita M. et al. Pituitary tumours: molecular and genetic aspects. **Journal of Endocrinology**, v. 257, n. 3, 1 jun. 2023