

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS DE CHAPECÓ
CURSO DE MEDICINA**

**ÂNGELO PEREIRA DE LACERDA
MAURO NICOLLAS OLIVEIRA SILVERIO**

**AVALIAÇÃO DOS CONSTITUINTES DO SISTEMA PURINÉRGICO E
PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS EM LINFÓCITOS DE PACIENTES COM
ADENOCARCINOMA COLORRETAL ESPORÁDICO**

CHAPECÓ - SC

2021

**ÂNGELO PEREIRA DE LACERDA
MAURO NICOLLAS OLIVEIRA SILVERIO**

**AVALIAÇÃO DOS CONSTITUINTES DO SISTEMA PURINÉRGICO E
PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS EM LINFÓCITOS DE PACIENTES COM
ADENOCARCINOMA COLORRETAL ESPORÁDICO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de bacharel em medicina.

Orientadora: Profa. Dra. Sarah Franco Vieira Oliveira Maciel

Co-orientação: Profa. Dra. Andréia Machado Cardoso

CHAPECÓ - SC

2021

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Silverio, Mauro Nicollas Oliveira
AVALIAÇÃO DOS CONSTITUINTES DO SISTEMA PURINÉRGICO E
PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS EM LINFÓCITOS DE PACIENTES COM
ADENOCARCINOMA COLORRETAL ESPORÁDICO / Mauro Nicollas
Oliveira Silverio, Angelo Pereira Lacerda. -- 2021.
31 f.

Orientadora: Dra. Sarah Franco Vieira Oliveira
Maciel

Co-orientadora: Dra. Andréia Machado Cardoso
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Medicina, Chapecó, SC, 2021.

1. Sistema Purinérgico. 2. Câncer Colorretal. I.
Lacerda, Angelo Pereira II. Maciel, Sarah Franco Vieira
Oliveira, orient. III. Cardoso, Andréia Machado,
co-orient. IV. Universidade Federal da Fronteira Sul. V.
Título.

ÂNGELO PEREIRA DE LACERDA
MAURO NICOLLAS OLIVEIRA SILVERIO

**AVALIAÇÃO DOS CONSTITUINTES DO SISTEMA PURINÉRGICO E
PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS EM LINFÓCITOS DE PACIENTES COM
ADENOCARCINOMA COLORRETAL ESPORÁDICO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de bacharel em medicina.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 18/10/2021.

BANCA EXAMINADORA



Prof.^a Dr.^a Sarah Franco Vieira de Oliveira Maciel – UFFS

Orientadora



Prof.^a Dr.^a Roberta Schmatz – IFRS

Avaliador



Prof.^a Dr.^a Aline Mânica – Unochapecó

Avaliador

RESUMO

Dentre as alterações patológicas que aumentam o potencial invasivo dos tumores, a evasão da resposta inflamatória e a sinalização purinérgica emergem como importantes componentes da progressão do câncer colorretal. A resposta imune celular está intimamente associada à presença de um infiltrado inflamatório tecidual, composto por células mononucleares que proliferam e produzem citocinas pró e anti-inflamatórias. Nesse infiltrado, a comunicação celular mediada por receptores de nucleotídeos/nucleosídeo é modulada pelas ectonucleotidases, que hidrolisam ATP, ADP e AMP em adenosina. O ATP pode agir como molécula pró-inflamatória, enquanto a adenosina age como um feedback negativo para limitar a inflamação. A IL-17, sintetizada pelo grupo de linfócitos Th17, é uma citocina pró-inflamatória que pode ser encontrada no soro. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da sinalização purinérgica na regulação do processo inflamatório mediado por linfócitos, através da determinação da atividade de ectonucleotidases envolvidas no metabolismo do ATP, ADP e adenosina em linfócitos, e quantificação dos níveis de IL-17 no soro de 27 pacientes com câncer colorretal e em 21 participantes saudáveis, respeitando a aplicação de um termo de consentimento livre e esclarecido. Também foram coletadas e consideradas as informações clinicopatológicas dos pacientes, os quais participaram da pesquisa anteriormente ao início de qualquer tipo de tratamento para a doença. Utilizando-se métodos colorimétricos, foi observado um aumento nas atividades das enzimas NTPDase e ADA em linfócitos, e redução na quantidade de IL-17 sérica de pacientes, representando uma consequência adaptativa do paciente frente ao estágio avançado da doença. Dessa forma, sugere-se que as alterações encontradas nos pacientes promovem um estado anti-inflamatório, o que favorece a progressão tumoral.

Palavras-chave: Linfócitos; Ectonucleotidases; Câncer Colorretal; IL-17.

ABSTRACT

Among the pathological changes that increase the invasive potential of tumors, the evasion of the inflammatory response and purinergic signaling emerge as important components of the progression of colorectal cancer. The cellular immune response is closely associated with the presence of inflammatory infiltrate in the tissue, composed of mononuclear cells that proliferate and produce pro and anti-inflammatory cytokines. In this infiltrate, cell communication mediated by nucleotide/nucleoside receptors is modulated by ectonucleotidases, which hydrolyze ATP, ADP and AMP to adenosine. ATP can act as a pro-inflammatory molecule, while adenosine acts as a negative feedback to limit inflammation. IL-17, synthesized by the group of Th17 lymphocytes, is a pro-inflammatory cytokine that can be found in serum. The objective of this work was to evaluate the influence of purinergic signaling in the regulation of the lymphocyte-mediated inflammatory process, by determining the activity of ectonucleotidases involved in the metabolism of ATP, ADP and adenosine in lymphocytes, and quantifying the levels of IL-17 in the serum of 27 patients with colorectal cancer and 21 healthy participants, respecting the application of an informed consent form. The clinicopathological information of patients who participated in the research prior to the beginning of any type of treatment for the disease were also collected and considered. Using colorimetric methods, an increase in the activities of NTPDase and ADA enzymes in lymphocytes was observed, also, a reduction in the amount of serum IL-17 in patients, representing an adaptive consequence of the patient facing the advanced stage of the disease. Thus, it is suggested that the alterations found in patients promote an anti-inflammatory state, which favors tumor progression.

Keywords: Lymphocytes; Ectonucleotidases; Colorectal cancer; IL-17.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - ATIVIDADE DA NTPDASE EM LINFÓCITOS USANDO ATP COMO SUBSTRATO.....	18
FIGURA 2 - ATIVIDADE DA NTPDASE EM LINFÓCITOS USANDO ADP COMO SUBSTRATO.....	18
FIGURA 3 - ATIVIDADE DA ADA EM LINFÓCITOS.....	19
FIGURA 4 - QUANTIFICAÇÃO DA IL-17 NO SORO.....	19

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES.....	15
TABELA 2 - CARACTERÍSTICAS DOS CONTROLES.....	16
TABELA 3 - ESTADIAMENTO TUMORAL DOS PACIENTES CONFORME GRUPO TNM.....	17

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	11
2.1. CÂNCER COLORRETAL E SISTEMA PURINÉRGICO.....	11
2.2. ECTONUCLEOTIDASES.....	12
2.3. INTERLEUCINA 17.....	12
2.4. ESTADIAMENTO TNM.....	13
3. METODOLOGIA.....	14
4. RESULTADOS.....	15
5. DISCUSSÃO.....	20
6. CONCLUSÃO.....	23
REFERÊNCIAS.....	24
APÊNDICES.....	28

O câncer colorretal (CCR) figura entre os tipos mais frequentes de câncer no Brasil e no mundo, sendo também responsável por grande mortalidade [1, 2]. Essa neoplasia pode ter causa hereditária, mas a sua grande maioria se forma de modo esporádico, associado aos hábitos de vida e à exposições ambientais crônicas [3, 4]. A instalação e progressão do CCR envolve a evasão tumoral de células do sistema imune, em especial os linfócitos, que são capazes de destruir células neoplásicas detectáveis, por meio da síntese de citocinas que induzem a célula alvo à apoptose [5].

Além das citocinas, a comunicação entre as células tumorais e o sistema imune ocorre por atividade do sistema purinérgico, desencadeando reações intracelulares a partir da conexão de purinas a receptores purinérgicos localizados na membrana celular [6]. A intensidade e a característica dessas reações varia de acordo com a concentração das purinas no meio extracelular, que consiste em um balanço entre a liberação de purinas, por meio do dano celular causado pelo tumor, e a degradação das purinas, realizada pelas ectoenzimas amplamente expressas nas membranas tanto de linfócitos quanto de células tumorais e células normais [7].

Alterações na atividade das ectoenzimas podem levar à hidrólise acentuada das purinas, o que é detectado pelos linfócitos e traduzido em um estado anti-inflamatório, que permite a proliferação tumoral [8]. De forma semelhante, mudanças na síntese da interleucina 17 (IL-17), uma citocina pró-inflamatória produzida por linfócitos, podem favorecer a proliferação tumoral [9]. A análise desses parâmetros, portanto, pode trazer novas informações acerca do desenvolvimento do CCR, bem como possibilitar novas ideias de intervenções.

O objetivo do presente estudo é avaliar a atividade de ectoenzimas do sistema purinérgico expressas em linfócitos, bem como a concentração da IL-17 liberada por eles no soro, em pacientes com CCR, e compará-las com indivíduos saudáveis. Para isso, foram coletadas amostras de sangue periférico de pacientes e controles na cidade de Chapecó - SC, separados o soro e os linfócitos, e avaliadas as atividades e concentrações por métodos colorimétricos.

A maioria das amostras utilizadas no estudo pertencia a pacientes em estágio tumoral avançado. Dada a complexidade da progressão tumoral anterior ao início do tratamento, os tumores podem exibir diferentes perfis inflamatórios relacionados ao sistema purinérgico, de

acordo com o estágio em que se encontram.

Ante o exposto, tendo em vista as funções desempenhadas pelo sistema purinérgico e a incidência e mortalidade do CCR, é de grande importância conhecer as propriedades das enzimas na manutenção do processo inflamatório, fundamental para o desenvolvimento e estabelecimento do câncer.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CÂNCER COLORRETAL E SISTEMA PURINÉRGICO

O câncer colorretal é um dos subtipos de câncer mais comuns, sendo a segunda maior incidência e causa de morte relacionada a câncer no Brasil em 2021, excluindo-se o câncer de pele não melanoma, com cerca de 40 mil novos casos [1]. Em todo o mundo, a incidência desse tipo de câncer aumentou em 57% entre 1990 e 2013 [2], e continuará crescendo pelo menos até 2050, segundo projeções [10]. Esse aumento pode estar associado a intensificação dos fatores de risco, como aumento no consumo de comida não saudável, sedentarismo, obesidade, alcoolismo, baixo nível educacional, baixo índice socioeconômico, bem como no aumento da expectativa de vida da população e melhoria dos métodos de rastreamento [11].

Cerca de 75% dos casos de CCR são esporádicos e independem de fatores hereditários ou história familiar [3, 4]. O desenvolvimento do CCR esporádico depende do acúmulo progressivo de mutações genéticas e alterações epigenéticas, envolvendo a ativação de oncogenes e a inativação de genes supressores de tumor. Esse processo envolve a manutenção de um processo inflamatório crônico, lento, que leva cerca de dez anos para transformar completamente as células epiteliais do cólon e reto em carcinomas [12, 13].

Os linfócitos, importantes células mediadoras da inflamação, correspondem a até 30% das células circulantes do sangue, sendo as principais células envolvidas no reconhecimento e destruição de antígenos não-próprios ou prejudiciais ao organismo. Os linfócitos do tipo T, maturados no timo, são encarregados da imunidade mediada por células, e subdividem-se em linfócitos T citotóxicos (CD8+), eliminadores de células infectadas, e em linfócitos T *helper* (Th; CD4+), que secretam citocinas reguladoras do sistema imune. Além disso, as células CD4+ podem ser dos tipos Th1, Th2 e Th17, variando de acordo com a citocina produzida [14]. Os linfócitos B, maturados na medula óssea, também podem ser encontrados no sangue periférico, e exercem atividade imune mediada por anticorpos [15].

Na membrana celular dos linfócitos encontra-se uma grande quantidade e variedade de componentes do sistema purinérgico, o qual corresponde a um mecanismo de sinalização extracelular, composto por um conjunto de enzimas e receptores e que utiliza nucleotídeos e nucleosídeo de adenina como substrato. Os nucleotídeos trifosfato de adenosina (ATP), difosfato de adenosina (ADP) e monofosfato de adenosina (AMP) são liberados pelas células através de transportadores de membrana em condições patológicas [16], enquanto o seu nucleosídeo correspondente, a adenosina, é majoritariamente formado no meio extracelular, a

partir da degradação dos nucleotídeos pelas enzimas nucleotidases [17]. Nucleotídeos e a adenosina são capazes de ativar ou inibir a atividade dos linfócitos, ligando-se aos receptores do sistema purinérgico P1, cujo agonista é a adenosina, ou P2, que se subdivide em P2X (canais ionotrópicos) e P2Y (ligados à proteína G), e cujos agonistas são o ATP, ADP e o uridina trifosfato (UTP). A concentração desses agonistas é regulada pela atividade de enzimas expressas na membrana celular, com sítio ativo no meio externo, sendo elas as ectonucleosídeo trifosfato difosfohidrolases (NTPDases), que transformam ATP em ADP ou ADP em AMP; 5'-Nucleotidase, que transforma AMP em adenosina; adenosina deaminase (ADA), que transforma adenosina em inosina; e ectonucleotídeo pirofosfatase (E-NPP), que transforma ATP diretamente em AMP [18].

2.2

ECTONUCLEOTIDASES

Todas as células tumorais e todas as células do sistema imune expressam receptores e enzimas do sistema purinérgico [6]. Enquanto o ATP extracelular geralmente sinaliza eventos pró-inflamatórios, circuitos autócrinos e parácrinos, através dos receptores P2X e P2Y; a adenosina exerce o efeito oposto, suprimindo a atuação do linfócito no processo patológico [19]. Dessa forma, entende-se que a atividade da NTPDase 1 (CD39), em conjunto com a 5'-nucleotidase, é imunossupressora, uma vez que transforma o ATP (molécula pró-inflamatória) em adenosina, um potente imunossupressor pela inibição da proliferação linfocitária [8]. A atividade da ADA degrada a adenosina do meio extracelular, evitando sua ação imunossupressora e favorecendo a atuação dos linfócitos T [20, 21].

2.3

INTERLEUCINA

17

A IL-17, sintetizada principalmente pelas células Th17, é um grupo de seis (6) citocinas conhecidas por induzir a expressão de citocinas pró-inflamatórias, através do aumento na síntese de interleucina 6 (IL-6) e de interleucina 8 (IL-8), e da secreção de interleucina-1 β (IL-1 β) e fator de necrose tumoral- α (TNF- α) por células endoteliais e macrófagos em humanos [22]. As seis citocinas são IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E e IL-17F [23–25]. Dentro do grupo, os diferentes membros exercem papéis diferentes: a IL-17A apresenta efeito pró tumorigênico no CCR, enquanto a IL-17F protege contra o câncer. Os níveis de IL-17C apresentam-se variáveis durante a progressão tumoral com tendência a diminuir nos estágios mais avançados [26, 27]. Essa interleucina foi associada à progressão tumoral, angiogênese e metástase do CCR [28]. No entanto, outros estudos indicam que a IL-17 induz imunidade

tumoral pelo recrutamento linfocitário no microambiente tumoral e sua relação com o CCR permanece controversa [28].

2.4

ESTADIAMENTO

TNM

Após o diagnóstico do CCR, é necessário realizar o estadiamento do tumor a fim de preconizar melhores estratégias de tratamento e se estabelecer o prognóstico. O sistema de estadiamento *tumour-node-metastasis* (TNM) da *American Joint Committee on Cancer* e da *Union for International Cancer Control* (AJCC/UICC) é, atualmente, o mais recomendado para este fim. O TNM consiste na avaliação de três critérios relacionados ao tumor: grau de invasão do tumor na parede do cólon (T), acometimento dos linfonodos regionais (N) e presença de metástases à distância (M) [29, 30].

Cada critério citado anteriormente conta com suas subdivisões para uma melhor classificação. A classificação do tumor primário T é descrita como: Tx quando o tumor primário não pôde ser avaliado; T0 quando não há evidências de tumor primário; Tis carcinoma in situ; T1 havendo invasão da submucosa; T2 invasão da muscular própria; T3 já se encontra em tecido pericólico; T4 quando o tumor invadiu outros órgãos ou estruturas ou perfura o peritônio visceral. O acometimento dos linfonodos regionais segue a mesma regra: Nx quando não foram avaliados, N0 não havendo metástase nestes linfonodos, N1 quando há de 1 a 3 linfonodos acometidos e N2 quando quatro ou mais linfonodos regionais foram invadidos. Por fim, tem-se a classificação das metástases à distância: Mx quando não se pôde avaliar, M0 não havendo metástase à distância e M1 quando há presença de metástases distantes. Entretanto, indivíduos com o mesmo estadiamento podem ter prognósticos diferentes [30].

4 METODOLOGIA

No estudo foram avaliadas as atividades enzimáticas de componentes do sistema purinérgico e a quantidade de IL-17 no soro de pacientes com CCR e controles. Os experimentos foram realizados com amostras sanguíneas coletadas de 27 pacientes com diagnóstico de CCR, previamente aos tratamentos cirúrgicos e/ou farmacológicos, e de 21 indivíduos saudáveis (controles).

A abordagem desses pacientes foi feita no setor de oncologia do Hospital Regional do Oeste, em Chapecó (SC), sendo convidados a participar da pesquisa, consentindo através de assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A) e, também, sendo coletados 30 ml de sangue periférico dos mesmos através de punção venosa. A busca por indivíduos saudáveis (controles) foi feita em ambientes de serviço público de saúde no município de Chapecó (SC).

Os pacientes diagnosticados com adenocarcinoma colorretal esporádico foram pareados com os controles seguindo critérios de idade (\pm 5 anos) e sexo.

Através dos prontuários médicos dos pacientes, foram obtidas informações como a idade, sexo, subtipo histológico do CCR, estágio tumoral, metástases, história familiar de câncer, doenças inflamatórias intestinais e doenças crônicas. Pacientes, a partir de 2020, também foram questionados quanto ao contato com COVID-19. Foram coletadas, portanto, apenas amostras de pacientes que referiram não ter doenças inflamatórias intestinais, doenças crônicas ou metabólicas ou histórico de infecção por COVID-19.

Os materiais biológicos dos pacientes e controles foram devidamente processados e armazenados nos laboratórios de pesquisa biológica da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) campus Chapecó. As amostras de linfócitos e soro foram congeladas em freezer a -80°C para as análises posteriores.

A atividade da enzima CD39 em linfócitos foi determinada conforme descrito por Leal et al. [31]. A atividade da enzima ADA, também em linfócitos, foi determinada de acordo com o protocolo de Giusti e Galanti [32]. Para a determinação dos parâmetros inflamatórios foi utilizado o kit ELISA para IL-17 (Elabscience®) em amostras de soro. Após os procedimentos, as amostras foram analisadas por colorimetria com o uso de espectrofotômetro.

Os dados foram avaliados estatisticamente pela realização do teste t não pareado, utilizando o programa GraphPad® Prism 7.

5 RESULTADOS

O grupo experimental consistiu em 27 pacientes com CCR de ambos os sexos (10 mulheres e 17 homens), e o grupo controle consistiu em 21 pessoas saudáveis (11 mulheres e 10 homens). As **Tabelas 1 e 2** descrevem as informações dos pacientes e controles, respectivamente. Nota-se que não foi possível coletar o estadiamento TNM de 6 pacientes, uma vez que estes não constavam em prontuário.

Tabela 1 - Características dos pacientes.

pacientes	sexo	idade	TNM
1	F	37	T3N0M0
2	M	58	T3N1M0
3	F	56	T3N2M1
4	M	51	T3N0M0
5 *	M	74	T4N1Mx
6	M	55	T3N2M0
7	M	68	T2N0Mx
8	F	61	T3N0M0
9	F	64	-
10	M	57	-
11	F	71	T3N1Mx
12	F	41	T3N1M0
13	F	74	T3N1Mx
14	M	59	T3N0M0
15	F	52	T3N1M0
16 *	M	57	T4N1M1
17	M	53	T3N1M1
18	M	63	T4N1M1
19	M	57	T3N0M0
20	M	63	T1N1Mx
21	M	73	T3N1Mx
22	M	75	T1N0Mx
23	M	70	-
24	M	55	-
25	M	56	-
26	F	73	T2N0Mx
27	F	34	-

Fonte: elaborada pelos autores.

Notas: * Pacientes que vieram a óbito. F, feminino. M, masculino.

Tabela 2 - Característica dos controles.

idade	nº de pacientes	% de pacientes
38	1	4,76%
39	2	9,52%
41	1	4,76%
42	1	4,76%
44	1	4,76%
45	1	4,76%
48	1	4,76%
50	1	4,76%
52	1	4,76%
53	3	14,32%
54	1	4,76%
56	1	4,76%
58	2	9,52%
59	2	9,52%
68	1	4,76%
77	1	4,76%

Fonte: elaborada pelos autores.

Com relação ao estadiamento TNM dos pacientes, pode-se perceber que na maior parte dos casos (66,7%) o tumor primário já havia invadido os tecidos periclorretais (T3); mais da metade dos casos (52,4%) apresentavam metástases em quatro ou mais linfonodos regionais (N2) e 42,9% não apresentavam metástases à distância (M0), conforme exposto na **Tabela 3**. Além disso, com base nos dados de prontuários, dois pacientes foram a óbito, sendo que ambos estavam estadiados com o tumor primário já tendo invadido outros órgãos (T4).

Tabela 3 - Estadiamento tumoral dos pacientes conforme grupo TNM.

Categoria	Subcategoria	nº de pacientes	% de pacientes
T	T1	2	9,5%
	T2	2	9,5%
	T3	14	66,7%
	T4	3	14,3%
N	N0	8	38,1%
	N1	11	52,4%

	N2	2	9,5%
M	Mx	8	38,1%
	M0	9	42,9%
	M1	4	19,0%

Fonte: elaborado pelos autores.

Nota: * Não foi possível acessar o estadiamento TNM de 6 pacientes, uma vez que a informação não constava no prontuário dos mesmos.

Os resultados obtidos para a hidrólise de ATP [$25,19 \pm 2,02$ (n= 18) vs. $33,79 \pm 3,34$ (n= 22) nmol Pi/min/mg de proteína, em controles e pacientes, respectivamente] estão apresentados na **Figura 1**, que demonstra aumento na atividade da NTPDase em linfócitos de pacientes com CCR em relação aos controles ($p < 0,05$). A hidrólise de ADP [$38,94 \pm 2,80$ (n= 19) vs. $34,32 \pm 2,18$ (n= 22) nmol Pi/min/mg de proteína, em controles e pacientes, respectivamente] apresentada na **Figura 2**, não demonstrou diferença estatisticamente significativa entre pacientes com CCR e controles ($p = 0,1952$).

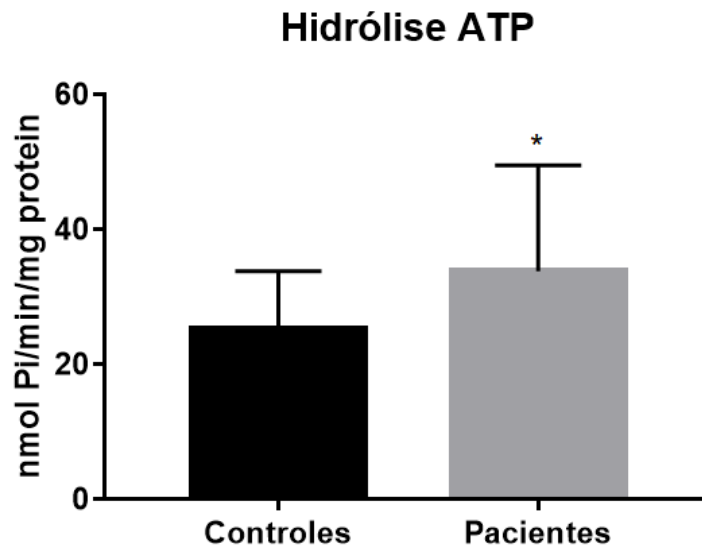


Figura 1. Atividade da NTPDase em linfócitos de pacientes com CCR (Patients) e nos indivíduos controles (Controls), usando ATP como substrato. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão (n=40).

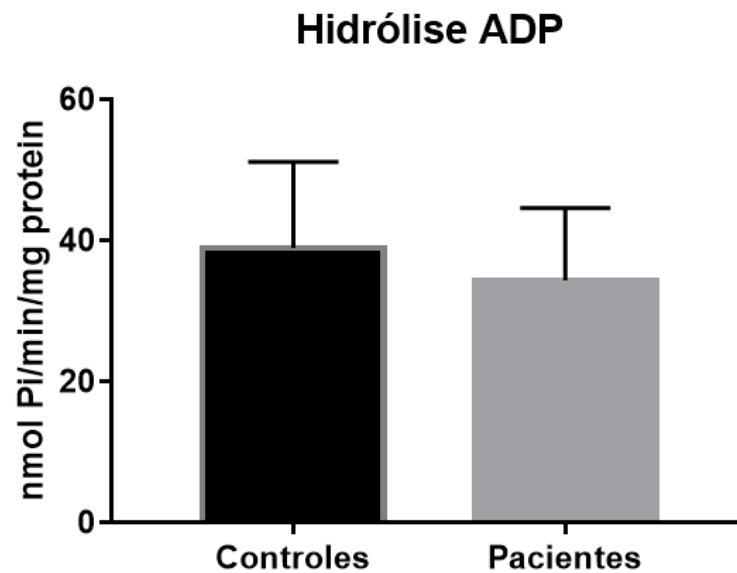


Figura 2. Atividade da NTPDase em linfócitos de pacientes com CCR (Patients) e nos indivíduos controles (Controls), usando ADP como substrato. Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão (n=41).

A atividade da enzima ADA [$2,976 \pm 0,6564$ (n= 17) vs. $6,01 \pm 1,349$ (n= 15) U/L, em controles e pacientes, respectivamente] está representada na **Figura 3**, que demonstra aumento na atividade da ADA em linfócitos de pacientes com CCR em relação aos controles ($p < 0.05$). A concentração sérica da IL-17 [$228,9 \pm 25,58$ (n= 9) vs. $146,1 \pm 23,49$ (n= 15) pg/mL, em controles e pacientes, respectivamente], apresentada na **Figura 4**, demonstra aumento da interleucina em controles em relação aos pacientes com CCR ($p < 0.05$). A variação no número amostral de cada experimento ocorreu por motivos externos, como esgotamento de amostras de pacientes entre outros.

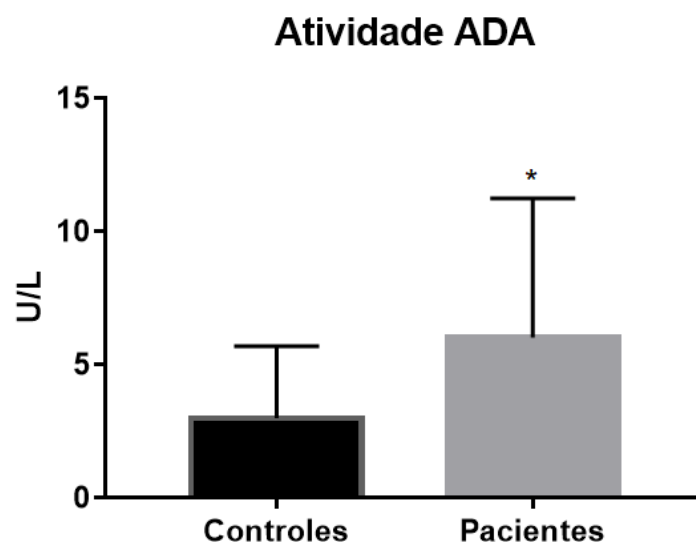


Figura 3. Atividade da ADA em linfócitos de pacientes com CCR (Patients) e nos indivíduos controles (Controls). Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão (n=32).

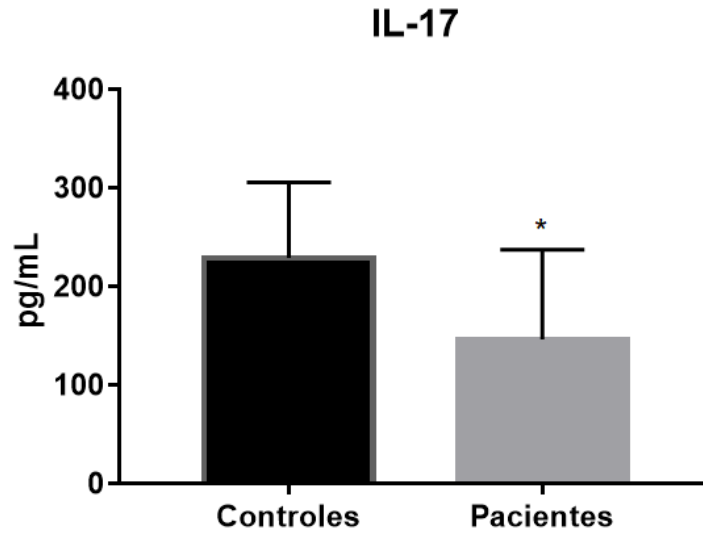


Figura 4. Quantificação da IL-17 no soro de pacientes com CCR (Patients) e nos indivíduos controles (Controls). Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão (n=24).

6 DISCUSSÃO

Os linfócitos exercem importantes funções homeostáticas na mucosa intestinal saudável, enquanto no CCR, a circulação e a infiltração de linfócitos no tumor é crucial para uma resposta imune antitumoral efetiva [5]. Em ambas as situações, os linfócitos infiltrados interagem com os nucleotídeos e nucleosídeo de adenina presentes no fluido intersticial, seja pela hidrólise realizada por suas enzimas de membrana, seja pela ligação aos seus receptores purinérgicos de superfície [6].

O presente estudo encontrou um aumento na hidrólise do ATP em linfócitos de pacientes com CCR. Esse ATP agiria sumariamente como imunoativador, ligando-se a receptores como o P2X7 em células dendríticas, que por sua vez ativam os linfócitos via IL-1 β [33, 34]. Dessa forma, aliado a outros estudos [35, 36], nosso resultado demonstra um favorecimento ao estado imunossupressivo desencadeado pela atuação da NTPDase em linfócitos de pacientes com CCR.

O produto final da hidrólise do ATP pelas 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 ligar, por exemplo, ao receptor P1 dos linfócitos T, em especial ao receptor A2A [37].

Com relação a esse estudo, foi encontrado um aumento na atividade da ADA nos pacientes com CCR. Este aumento pode estar relacionado com um mecanismo de compensação da enzima a fim de tentar controlar o metabolismo aumentado das purinas no tumor [38, 39]. Ademais, os resultados vão de encontro com dados relatados por Eroglu e colaboradores, que, além de encontrarem aumento da atividade da ADA em pacientes com CCR, relacionam esse aumento com as metástases em linfonodos, sendo maior a atividade enzimática em indivíduos com invasão linfonodal [39], justificando assim o aumento da atividade da ADA no presente estudo, uma vez que mais de 60% dos pacientes estão estadiados em N1 e N2, na classificação TNM.

Em conjunto com a NTPDase, a ADA é outra enzima importante no metabolismo das purinas. Ela é responsável por catalisar a reação de desaminação da adenosina em inosina e desoxiadenosina em desoxinosina, que possuem diversas funções fisiológicas no corpo [40, 41]. O efeito da adenosina difere-se conforme o tecido alvo e quanto ao seu receptor, sendo que a ativação de diferentes receptores pode levar a respostas opostas, como resposta patológica ou protetora [42].

A interação entre a adenosina e seus receptores (A3, A2B, A2A e A1) têm grande importância em diversas características do câncer, como proliferação celular, angiogênese e metástases, suprimindo a resposta imune antitumoral localmente [38].

A ADA regula as concentrações intra e extracelular da adenosina, convertendo-a em inosina por meio de uma reação irreversível [43]. Essa enzima, portanto, modula a concentração de adenosina no tumor [44]. Juntamente com a ADA, a NTPDase facilita o acúmulo e superprodução de adenosina no microambiente tumoral, entretanto, os mecanismos enzimáticos e as consequências desse acúmulo ainda não são completamente entendidos [38, 45].

Na literatura encontram-se diversos estudos que demonstram os níveis de ADA em indivíduos com câncer comparados com indivíduos saudáveis, contudo, não há um consenso a respeito, uma vez que alguns estudos relatam atividade da ADA aumentada e outros relatam atividade da ADA diminuída em pacientes que possuem neoplasias [46–50]. Essa falta de consenso pode ser devido à enzima possuir um papel anti ou pró inflamatório, a depender do estado imunológico [51].

Além disso, vale ressaltar o papel dessa enzima em desaminar análogos da adenosina utilizados em quimioterapia, que pode ter como consequência o comprometimento dos mesmos [51], dificultando a efetividade de sua utilização nos pacientes do estudo.

Na análise do trabalho, conforme mostrado na **Figura 4**, foi encontrada uma diminuição dos níveis séricos de IL-17 nos pacientes com CCR quando comparados com o grupo controle. Os dados podem ser justificados uma vez que grande parte dos pacientes analisados já estavam em estágio avançado da doença, sendo estes resultados corroborados pelo estudo de Wang e colaboradores, onde foi demonstrado que os níveis de IL-17 decresce com o avanço da doença em indivíduos com neoplasia colorretal [52] e também em outras neoplasias [53].

Quando há a formação do tumor, o sistema imunológico reage como forma de resposta às células neoplásicas. Essa ação envolve interações entre o câncer e a imunidade celular do indivíduo no microambiente tumoral. As células neoplásicas secretam mediadores pró inflamatórios e, em resposta a esses estímulos, as células imunes produzem citocinas, tal qual a IL-17 [54]. Diversos estudos na literatura demonstram o nível de IL-17 aumentado no soro de pacientes com CCR, além de apresentar papel significativo na metástase e prognóstico [9, 54, 55].

A angiogênese, ativada principalmente pelo fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), é de suma importância no crescimento e metástase do tumor. Liu e colaboradores e Chung e colaboradores publicaram estudos mostrando que a IL-17, ao se ligar aos seus receptores (IL-17R) em células endoteliais, estimulam estas células a produzirem VEGF,

podendo levar, indiretamente, à angiogênese das células tumorais e também à resistência a drogas que bloqueiam o VEGF e seus efeitos antitumorais e anti angiogênicos [9, 56].

Além da angiogênese, a IL-17 induz a metástase em pacientes com CCR. A metástase é a principal causa de morte em pacientes com esta neoplasia, mesmo que o tumor primário tenha sido removido [57]. Essa citocina pode estimular a expressão do receptor 6 de quimiocina (CCR6), que possui grande significância na migração e metástase das células tumorais e, ainda, há relatos na literatura de níveis elevados de CCR6 em metástases hepáticas de CCR [58–60].

Entretanto, a ação da IL-17 no desenvolvimento tumoral ainda é controversa na literatura. Essa citocina demonstra estar associada com o CCR em estágio inicial e ser sinônimo de melhor prognóstico. Além disso, Honorati e colaboradores mostraram que, por meio do recrutamento de linfócitos, células *natural killer* (NK) e células dendríticas, a IL-17 pode induzir a atividade tumoral além do estímulo à atividade de células T tumorais específicas, levando à supressão do crescimento do tumor. Por fim, a IL-17 também possui efeito antitumoral ao aumentar a expressão do interferon gama (IFN- γ) [23, 61, 62].

A partir deste estudo inicial espera-se contribuir e incentivar novas pesquisas nas áreas de CCR e sistema purinérgico. Além disso, é importante ressaltar a sustentabilidade dos resultados uma vez que foram analisados diretamente em pacientes com a neoplasia. Ademais, esta pesquisa favorece a consolidação desta área de estudo e o progresso científico, elucidando a relação entre o câncer, o sistema purinérgico e a inflamação. Por fim, é possível concluir que as ectonucleotidases e a citocina IL-17 estão alterados em pacientes com CCR em relação aos indivíduos saudáveis, o que pode estar produzindo um estado imunossupressivo favorável à progressão tumoral.

REFERÊNCIAS

1. BRASIL (2020) Estimativa 2020: Incidência de Câncer no Brasil. Instituto Nacional do Câncer - Ministério da Saúde, Brasília, DF
2. Naghavi M, Abajobir AA, Abbafati C, et al (2017) Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet* 390:1151–1210. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32152-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32152-9)
3. Rustgi AK (2007) The genetics of hereditary colon cancer. *Genes Dev* 21:2525–2538. <https://doi.org/10.1101/gad.1593107>
4. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, et al (1988) Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med* 319:525–532. <https://doi.org/10.1056/NEJM198809013190901>
5. Löfroos A-B, Kadivar M, Resic Lindehammer S, Marsal J (2017) Colorectal cancer-infiltrating T lymphocytes display a distinct chemokine receptor expression profile. *Eur J Med Res* 22:40. <https://doi.org/10.1186/s40001-017-0283-8>
6. Di Virgilio F, Adinolfi E (2017) Extracellular purines, purinergic receptors and tumor growth. *Oncogene* 36:293–303. <https://doi.org/10.1038/onc.2016.206>
7. Braun N, Sévigny J, Robson SC, et al (2000) Assignment of ecto-nucleoside triphosphate diphosphohydrolase-1/cd39 expression to microglia and vasculature of the brain. *Eur J Neurosci* 12:4357–4366
8. Deaglio S, Dwyer KM, Gao W, et al (2007) Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. *J Exp Med* 204:1257–1265. <https://doi.org/10.1084/jem.20062512>
9. Liu J, Duan Y, Cheng X, et al (2011) IL-17 is associated with poor prognosis and promotes angiogenesis via stimulating VEGF production of cancer cells in colorectal carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 407:348–354. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.03.021>
10. Pilleron S, Soto-Perez-de-Celis E, Vignat J, et al (2021) Estimated global cancer incidence in the oldest adults in 2018 and projections to 2050. *Int J Cancer* 148:601–608. <https://doi.org/10.1002/ijc.33232>
11. Doubeni CA, Major JM, Laiyemo AO, et al (2012) Contribution of behavioral risk factors and obesity to socioeconomic differences in colorectal cancer incidence. *J Natl Cancer Inst* 104:1353–1362. <https://doi.org/10.1093/jnci/djs346>
12. Colussi D, Brandi G, Bazzoli F, Ricciardiello L (2013) Molecular pathways involved in colorectal cancer: implications for disease behavior and prevention. *Int J Mol Sci* 14:16365–16385. <https://doi.org/10.3390/ijms140816365>
13. Grady WM, Carethers JM (2008) Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology* 135:1079–1099. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.07.076>
14. De Boer RJ, Perelson AS (2013) Quantifying T lymphocyte turnover. *J Theor Biol* 327:45–87. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2012.12.025>
15. Przybyła T, Sakowicz-Burkiewicz M, Pawełczyk T (2018) Purinergic signaling in B cells. *Acta Biochim Pol* 65:1–7. https://doi.org/10.18388/abp.2017_1588
16. Young JD, Yao SYM, Baldwin JM, et al (2013) The human concentrative and equilibrative nucleoside transporter families, SLC28 and SLC29. *Mol Aspects Med* 34:529–547. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.05.007>
17. Longhi MS, Robson SC, Bernstein SH, et al (2013) Biological functions of ecto-enzymes in regulating extracellular adenosine levels in neoplastic and inflammatory disease states. *J Mol Med (Berl)* 91:165–172. <https://doi.org/10.1007/s00109-012-0991-z>
18. Jacob F, Novo CP, Bachert C, Van Crombruggen K (2013) Purinergic signaling in inflammatory cells: P2 receptor expression, functional effects, and modulation of inflammatory responses. *Purinergic Signal* 9:285–306. <https://doi.org/10.1007/s11302-013-9357-4>
19. Beldi G, Enjyoji K, Wu Y, et al (2008) The role of purinergic signaling in the liver and in transplantation: effects of extracellular nucleotides on hepatic graft vascular injury, rejection and metabolism. *Front Biosci* 13:2588–2603. <https://doi.org/10.2741/2868>
20. Buckley RH (2004) Molecular defects in human severe combined immunodeficiency and approaches to immune reconstitution. *Annu Rev Immunol* 22:625–655.

- <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.22.012703.104614>
21. Gessi S, Varani K, Merighi S, et al (2007) Adenosine and lymphocyte regulation. *Purinergic Signal* 3:109–116. <https://doi.org/10.1007/s11302-006-9042-y>
 22. Zhu X, Mulcahy LA, Mohammed RAA, et al (2008) IL-17 expression by breast-cancer-associated macrophages: IL-17 promotes invasiveness of breast cancer cell lines. *Breast Cancer Res* 10:R95. <https://doi.org/10.1186/bcr2195>
 23. Yang L, Liu H, Zhang L, et al (2016) Effect of IL-17 in the development of colon cancer in mice. *Oncol Lett* 12:4929–4936. <https://doi.org/10.3892/ol.2016.5329>
 24. Oukka M (2007) Interplay between pathogenic Th17 and regulatory T cells. *Ann Rheum Dis* 66 Suppl 3:iii87-90. <https://doi.org/10.1136/ard.2007.078527>
 25. Moseley TA, Haudenschild DR, Rose L, Reddi AH (2003) Interleukin-17 family and IL-17 receptors. *Cytokine Growth Factor Rev* 14:155–174. [https://doi.org/10.1016/s1359-6101\(03\)00002-9](https://doi.org/10.1016/s1359-6101(03)00002-9)
 26. Al-Samadi A, Moossavi S, Salem A, et al (2016) Distinctive expression pattern of interleukin-17 cytokine family members in colorectal cancer. *Tumour Biol* 37:1609–1615. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-3941-x>
 27. Nemati K, Golmoghaddam H, Hosseini SV, et al (2015) Interleukin-17FT7488 allele is associated with a decreased risk of colorectal cancer and tumor progression. *Gene* 561:88–94. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.02.014>
 28. Razi S, Baradaran Noveiry B, Keshavarz-Fathi M, Rezaei N (2019) IL-17 and colorectal cancer: From carcinogenesis to treatment. *Cytokine* 116:7–12. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2018.12.021>
 29. Bruni D, Angell HK, Galon J (2020) The immune contexture and Immunoscore in cancer prognosis and therapeutic efficacy. *Nat Rev Cancer* 20:662–680. <https://doi.org/10.1038/s41568-020-0285-7>
 30. Shia J, Klimstra DS, Bagci P, et al (2012) TNM staging of colorectal carcinoma: issues and caveats. *Semin Diagn Pathol* 29:142–153. <https://doi.org/10.1053/j.semdp.2012.02.001>
 31. Leal DBR, Streher CA, Neu TN, et al (2005) Characterization of NTPDase (NTPDase1; ecto-apyrase; ecto-diphosphohydrolase; CD39; EC 3.6.1.5) activity in human lymphocytes. *Biochim Biophys Acta* 1721:9–15. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2004.09.006>
 32. Giusti G, Galanti B (1984) *Methods of enzymatic analysis*. Verlag Chemie 315–323
 33. Scheuplein F, Schwarz N, Adriouch S, et al (2009) NAD⁺ and ATP released from injured cells induce P2X7-dependent shedding of CD62L and externalization of phosphatidylserine by murine T cells. *J Immunol* 182:2898–2908. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0801711>
 34. Grassi F (2020) The P2X7 Receptor as Regulator of T Cell Development and Function. *Frontiers in Immunology* 11:1179. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01179>
 35. Hu G, Wu P, Cheng P, et al (2017) Tumor-infiltrating CD39⁺ $\gamma\delta$ Tregs are novel immunosuppressive T cells in human colorectal cancer. *Oncoimmunology* 6:e1277305. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2016.1277305>
 36. Ahlmanner F, Sundström P, Akeus P, et al (2018) CD39 + regulatory T cells accumulate in colon adenocarcinomas and display markers of increased suppressive function. *Oncotarget* 9:36993–37007. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.26435>
 37. Hoskin DW, Mader JS, Furlong SJ, et al (2008) Inhibition of T cell and natural killer cell function by adenosine and its contribution to immune evasion by tumor cells (Review). *Int J Oncol* 32:527–535
 38. Hajizadeh F, Masjedi A, Heydarzede Asl S, et al (2020) Adenosine and adenosine receptors in colorectal cancer. *International Immunopharmacology* 87:106853. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106853>
 39. Eroglu A, Canbolat O, Demirci S, et al (2000) Activities of adenosine deaminase and 5'-nucleotidase in cancerous and noncancerous human colorectal tissues. *Med Oncol* 17:319–324. <https://doi.org/10.1007/BF02782198>
 40. Park J, Gupta RS (2013) Adenosine Metabolism, Adenosine Kinase, and Evolution. In: Masino S, Boison D (eds) *Adenosine: A Key Link between Metabolism and Brain Activity*. Springer, New York, NY, pp 23–54
 41. Moreno E, Canet J, Gracia E, et al (2018) Molecular Evidence of Adenosine Deaminase Linking Adenosine A2A Receptor and CD26 Proteins. *Front Pharmacol* 9:106. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00106>

42. Fredholm BB (2007) Adenosine, an endogenous distress signal, modulates tissue damage and repair. *Cell Death Differ* 14:1315–1323. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4402132>
43. Arch JR, Newsholme EA (1978) Activities and some properties of 5'-nucleotidase, adenosine kinase and adenosine deaminase in tissues from vertebrates and invertebrates in relation to the control of the concentration and the physiological role of adenosine. *Biochem J* 174:965–977
44. Allard B, Allard D, Buisseret L, Stagg J (2020) The adenosine pathway in immuno-oncology. *Nat Rev Clin Oncol* 17:611–629. <https://doi.org/10.1038/s41571-020-0382-2>
45. Spsychala J (2000) Tumor-promoting functions of adenosine. *Pharmacol Ther* 87:161–173. [https://doi.org/10.1016/s0163-7258\(00\)00053-x](https://doi.org/10.1016/s0163-7258(00)00053-x)
46. Kojima O, Majima T, Uehara Y, et al (1985) Alteration of adenosine deaminase levels in peripheral blood lymphocytes of patients with gastric cancer. *Jpn J Surg* 15:130–133. <https://doi.org/10.1007/BF02469742>
47. Durak I, İşik AC, Canbolat O, et al (1993) Adenosine deaminase, 5' nucleotidase, xanthine oxidase, superoxide dismutase, and catalase activities in cancerous and noncancerous human laryngeal tissues. *Free Radic Biol Med* 15:681–684. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(93\)90174-s](https://doi.org/10.1016/0891-5849(93)90174-s)
48. Sufrin G, Tritsch GL, Mittelman A, Murphy GP (1978) Adenosine deaminase activity in patients with carcinoma of the bladder. *J Urol* 119:343–346. [https://doi.org/10.1016/s0022-5347\(17\)57486-8](https://doi.org/10.1016/s0022-5347(17)57486-8)
49. Sanfilippo O, Camici M, Tozzi MG, et al (1994) Relationship between the levels of purine salvage pathway enzymes and clinical/biological aggressiveness of human colon carcinoma. *Cancer Biochem Biophys* 14:57–66
50. Camici M, Tozzi MG, Allegrini S, et al (1990) Purine salvage enzyme activities in normal and neoplastic human tissues. *Cancer Biochem Biophys* 11:201–209
51. Bagheri S, Saboury AA, Haertlé T (2019) Adenosine deaminase inhibition. *Int J Biol Macromol* 141:1246–1257. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.078>
52. Wang J, Xu K, Wu J, et al (2012) The changes of Th17 cells and the related cytokines in the progression of human colorectal cancers. *BMC Cancer* 12:418. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-12-418>
53. Zanini D (2014) Atividade de ectoenzimas do sistema purinérgico e análise de biomarcadores inflamatórios e de estresse oxidativo em pacientes com câncer de pulmão. Tese, Universidade Federal de Santa Maria
54. Cui G, Yang H, Zhao J, et al (2015) Elevated proinflammatory cytokine IL-17A in the adjacent tissues along the adenoma-carcinoma sequence. *Pathol Oncol Res* 21:139–146. <https://doi.org/10.1007/s12253-014-9799-1>
55. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F (2008) Cancer-related inflammation. *Nature* 454:436–444. <https://doi.org/10.1038/nature07205>
56. Chung AS, Wu X, Zhuang G, et al (2013) An interleukin-17-mediated paracrine network promotes tumor resistance to anti-angiogenic therapy. *Nat Med* 19:1114–1123. <https://doi.org/10.1038/nm.3291>
57. Bender U, Rho YS, Barrera I, et al (2019) Adjuvant therapy for stages II and III colon cancer: risk stratification, treatment duration, and future directions. *Curr Oncol* 26:S43–S52. <https://doi.org/10.3747/co.26.5605>
58. Liu J, Ke F, Xu Z, et al (2014) CCR6 is a prognostic marker for overall survival in patients with colorectal cancer, and its overexpression enhances metastasis in vivo. *PLoS One* 9:e101137. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101137>
59. Dellacasagrande J, Schreurs OJF, Hofgaard PO, et al (2003) Liver metastasis of cancer facilitated by chemokine receptor CCR6. *Scand J Immunol* 57:534–544. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3083.2003.01263.x>
60. Chin C-C, Chen C-N, Kuo H-C, et al (2015) Interleukin-17 induces CC chemokine receptor 6 expression and cell migration in colorectal cancer cells. *J Cell Physiol* 230:1430–1437. <https://doi.org/10.1002/jcp.24796>
61. Laan M, Cui ZH, Hoshino H, et al (1999) Neutrophil recruitment by human IL-17 via C-X-C chemokine release in the airways. *J Immunol* 162:2347–2352
62. Honorati MC, Neri S, Cattini L, Facchini A (2003) IL-17 enhances the susceptibility of U-2 OS osteosarcoma cells to NK cell lysis. *Clin Exp Immunol* 133:344–349.

<https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.2003.02234.x>

APÊNDICE A - TCLE

Comitê de Ética em Pesquisa - CEP/UFFS

Prezado (a) participante,

Você está sendo convidado (a) para participar da pesquisa: Avaliação da atividade e expressão de componentes do Sistema Purinérgico em plaquetas e linfócitos de pacientes com câncer colorretal esporádico, desenvolvida por discentes e docentes do curso de Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Chapecó – SC, sob coordenação da Professora Dra. Sarah F. V. O. Maciel.

1. Objetivo Central

Avaliar a atividade e expressão de componentes do Sistema Purinérgico, como enzimas e receptores, em plaquetas e linfócitos de pacientes com câncer colorretal esporádico, de modo a compreender mais profundamente as alterações fisiológicas desencadeadas pelo câncer nesses pacientes.

2. Critério de Inclusão

Pacientes: voluntários entre dezoito (18) e setenta (70) anos de idade que tenham sido diagnosticados com câncer colorretal esporádico (sem origem familiar) por coloproctologista ou oncologista, conforme CID 10, e que não tenham realizado a remoção do tumor ou iniciado tratamento farmacológico. Controles: voluntários entre dezoito (18) e setenta (70) anos de idade que não possuam patologias ativas ou crônicas. Sua participação não é obrigatória e você tem plena autonomia para decidir se deseja ou não participar, além de poder desistir da colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de explicação. Contudo, ela é muito importante para a execução da pesquisa. Você não receberá remuneração e nenhum tipo de recompensa nesta pesquisa.

3. Mecanismos para garantir o sigilo e privacidade

Serão garantidas a confidencialidade e a privacidade das informações por você prestadas. Qualquer dado que possa identificá-lo será omitido na divulgação dos resultados da pesquisa. A qualquer momento, durante a pesquisa, ou posteriormente, você poderá solicitar aos pesquisadores informações sobre sua participação e/ou sobre a pesquisa, o que poderá ser feito através dos meios de contato explicitados neste Termo.

4. Identificação do participante ao longo do trabalho

Seu nome não será mencionado durante qualquer etapa desta pesquisa, bem como em quaisquer publicações, cursos, relatórios e afins. Apenas o nome da Instituição será mencionado. Para manter o seu anonimato, será utilizada uma codificação numérica. Cada participante terá um número distinto.

5. Tempo de duração da coleta/procedimento/experimento

A sua participação na pesquisa consistirá em consentir na disponibilização dos prontuários médicos (idade, sexo, subtipo patológico do tumor, estadiamento, etc) aos pesquisadores, no fornecimento de 30 ml de sangue total, cujas amostras serão congeladas para posteriores análises, e em responder aos questionários de qualidade de vida. As coletas serão realizadas pelos pesquisadores responsáveis, em ambiente adequado. O tempo de duração da entrevista e da coleta de sangue será de no máximo uma (1) hora.

6. Guarda dos dados e materiais coletados na pesquisa

As amostras e demais materiais coletados durante a pesquisa serão mantidos em arquivo, físico ou digital, por um período de cinco (5) anos. Apenas os pesquisadores e a orientadora terão acesso às amostras e demais dados. O material coletado será armazenado em armário com cadeado, na sala da pesquisadora, na UFFS. Após o período de cinco anos, todos os arquivos armazenados (físico ou digital) serão destruídos/deletados.

7. Benefícios diretos (individuais ou coletivos) aos participantes da pesquisa

O benefício relacionado com a sua colaboração nessa pesquisa é o aprofundamento dos conhecimentos sobre a ação do Sistema Purinérgico no contexto do câncer colorretal esporádico. Dessa forma, torna-se possível progredir nos aspectos relacionados ao tratamento e, conseqüentemente, prognóstico da condição.

8. Previsão de riscos ou desconfortos

A participação na pesquisa poderá causar riscos. Um risco previsível neste caso é o desconforto no momento da coleta de sangue, em decorrência da picada da agulha. O risco será minimizado, pois a coleta será realizada por profissionais capacitados, visando a segurança dos participantes. Os pesquisadores explicarão detalhadamente o conteúdo da pesquisa e advertirão os participantes de que sua participação não é necessária caso não sintam-se confortáveis para tal. Caso os riscos previstos ocorram, você receberá tratamento e acompanhamento até que esses desconfortos desapareçam. Por exemplo, caso haja hematoma no local da coleta de sangue, você será acompanhado até que esse hematoma desapareça.

9. Divulgação dos resultados da pesquisa

A devolutiva dos resultados obtidos na pesquisa será realizada por meio de publicações científicas e participação em eventos científicos da área, com palestras e com o uso de pôster e banner ou informativos online. Os dados pessoais dos participantes não serão divulgados em nenhum momento. Caso concorde em participar, concedendo amostra de sangue, uma via deste termo ficará em seu poder e a outra será entregue ao pesquisador. Não receberá cópia deste termo, mas apenas uma via. Desde já agradecemos sua participação!

Chapecó – SC, _____ de _____ de _____.

Assinatura do Pesquisador Responsável

Contato profissional com o(a) pesquisador(a) responsável: Tel: 49-30254508/ e-mail: sarah.maciel@uffs.edu.br. Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFFS: Tel e Fax - 49- 2049-3745/ E-Mail: cep.uffs@uffs.edu.br.

Endereço para correspondência: Comitê de Ética em Pesquisa da UFFS, Universidade Federal da Fronteira Sul, Bloco da Biblioteca, Sala 310, 3º andar, Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul, CEP 89815-899, Chapecó, Santa Catarina, Brasil.

Declaro que entendi os objetivos e condições de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

Nome completo do participante

Assinatura
