

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

EDUARDA VALCARENGHI

**ANÁLISE DE COMPONENTES DO SISTEMA PURINÉRGICO EM MULHERES
COM CÂNCER DE MAMA**

CHAPECÓ

2023

EDUARDA VALCARENGHI

**ANÁLISE DE COMPONENTES DO SISTEMA PURINÉRGICO EM MULHERES
COM CÂNCER DE MAMA**

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

Orientador: Prof^ª. Dra. Sarah Vieira Franco Oliveira Maciel

Coorientador: Débora Tavares de Resende e Silva

**CHAPECÓ
2023**

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Valcarenghi, Eduarda

Análise de componentes do Sistema Purinérgico em mulheres com câncer de mama / Eduarda Valcarenghi. -- 2023.

41 f.:il.

Orientadora: Doutora Sarah Vieira Franco Oliveira Maciel

Co-orientadora: Doutora Débora Tavares de Resende e Silva

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Bacharelado em Enfermagem, Chapecó, SC, 2023.

1. Câncer de mama. 2. Sistema Purinérgico. 3. Adenosina Trifosfato. 4. Inflamação. I. Maciel, Sarah Vieira Franco Oliveira, orient. II. , Débora Tavares de Resende e Silva, co-orient. III. Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

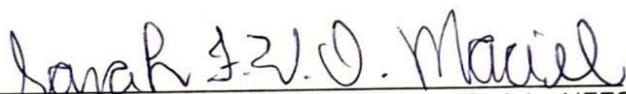
EDUARDA VALCARENGHI

**ANÁLISE DE COMPONENTES DO SISTEMA PURINÉRGICO EM MULHERES
COM CÂNCER DE MAMA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Enfermagem da Universidade Federal da
Fronteira Sul (UFFS) como requisito parcial para
obtenção do grau de Bacharel em Enfermagem.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 14/02/2023.

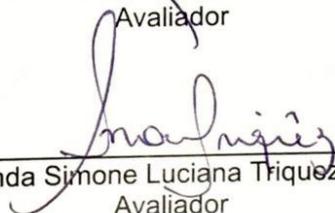
BANCA EXAMINADORA



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



Prof. Dr. Vander Monteiro da Conceição – UFFS
Avaliador



Mestranda Simone Luciana Trique – UFFS
Avaliador

Prof.^a Ana Paula Geraldi – UFFS
Terceiro membro/ Membro suplente

Dedico este trabalho a todas as mulheres que lutaram
e lutam contra o Câncer de Mama. Dedico também
às muitas mãos que me tornaram quem eu sou
hoje e especialmente agradeço a Deus por tê-las
em meu caminho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Benvinda e Alderi por estarem ao meu lado nesse período e fazerem com que esse findar de ciclo fosse possível. Ao meu namorado e companheiro diário Wellinton que me apoiou nas dificuldades e me auxiliou em incontáveis momentos, meu muito obrigada eu amo você. A minha irmã Elaine e meu cunhado Cleomar agradeço pelos conselhos e caronas ao longo desses cinco anos e por serem também alicerces desse caminho. Ao meu amado sobrinho que mesmo sem entender do que se trata tudo isso por agora, compartilhou desse período comigo e sempre se manteve preocupado sobretudo com meus lanches ao ficar o dia todo fora de casa, a Dinda ama você Lorenzo. Aos demais membros da família que me apoiaram e vibraram com minhas conquistas, meu muito obrigada. A minha orientadora que me acolheu e me ensinou muito além das técnicas meu agradecimento eterno. Aos meus amigos e confidentes das alegrias e das tristezas desse período, incluo aqui os que carrego desde o ensino médio, os que a universidade me apresentou e também os que a pesquisa trouxe para perto de mim sem dúvidas vocês foram essenciais nesse período. A essa instituição pública, gratuita e de qualidade que me proporcionou além de um título, vivências indescritíveis. Aos mestres e profissionais que cruzaram o meu caminho e além de repassarem seus conhecimentos foram inspiração.

RESUMO

O câncer de mama (CM) surge a partir de uma desregulação no ciclo celular que propicia o crescimento anormal das células de diversos tecidos mamários, constitui um problema de saúde pública mundial pela alta incidência e taxa de mortalidade elevada. Sabe-se que o sistema purinérgico atua modulando as respostas imunes em diversas doenças e isso é alvo de diversos estudos no que tange o CM. Nesse viés, o presente estudo buscou avaliar a quantidade de Adenosina Trifosfato (ATP) sistêmico e a atividade enzimática da CD39 através das hidrólises de ATP e Adenosina Difosfato (ADP). O estudo foi composto por mulheres com CM (n= 36) e controles (n= 33) pareadas por idade e sexo. As análises estatísticas foram realizadas através do software GraphPad Prism 8, os dados foram testados quanto a sua normalidade (Kolmogorov Smirnov), após os dados foram testados utilizando o teste T Student ou o Mann Whitney. Para as análises de correlação utilizou-se o teste de Pearson. Demonstrou-se que a quantidade de ATP é maior em pacientes em relação ao grupo controle ($p=0,0001$) e que a atividade da CD39 não demonstra variação entre os grupos. Notou-se uma correlação negativa entre quantidade e hidrólise de ATP nas pacientes ($p=0,0008$) que não foi encontrada nos controles ($p=0,7052$). Ainda, observou-se uma correlação positiva entre as hidrólises de ATP e ADP em ambos os grupos (pacientes: $p=0,0262$; e controles: $p<0,0001$). Portanto, evidenciou-se que há uma elevada concentração de ATP sistêmico nas pacientes em relação as controles e que essa molécula além de propiciar a inflamação, atua também na sinalização purinérgica. Esses dados sugerem que o sistema purinérgico está modulado de forma a manter as altas concentrações de ATP a fim de modular a resposta inflamatória estimulando-a, porém, é necessário realizar análises dos demais componentes do sistema purinérgico para elucidar as vias e utilizar essa modulação como alvo terapêutico.

Palavras-chave: câncer de mama; sistema purinérgico; Adenosina Trifosfato; Inflamação.

ABSTRACT

Breast cancer (BC) arises from a deregulation in the cell cycle that favors the abnormal growth of cells in various breast tissues, and constitutes a global public health problem due to its high incidence and high mortality rate. It is known that the purinergic system acts by modulating the immune responses in several diseases and this is the subject of several studies regarding the CM. In this bias, the present study sought to evaluate the amount of systemic Adenosine Triphosphate (ATP) and the enzymatic activity of CD39 through the hydrolysis of ATP and Adenosine Diphosphate (ADP). The study was composed of women with BC (n= 36) and controls (n= 33) matched for age and sex. Statistical analyzes were performed using the GraphPad Prism 8 software, the data were tested for normality (Kolmogorov Smirnov), after which the data were tested using the Student's T test or the Mann Whitney test. For correlation analysis, Pearson's test was used. It was demonstrated that the amount of ATP is greater in patients compared to the control group ($p=0.0001$) and that CD39 activity does not show variation between groups. There was a negative correlation between ATP quantity and hydrolysis in patients ($p=0.0008$) which was not found in controls ($p=0.7052$). Furthermore, a positive correlation was observed between ATP and ADP hydrolysis in both groups (patients: $p=0.0262$; and controls: $p<0.0001$). Therefore, it was evident that there is a high concentration of systemic ATP in patients compared to controls and that this molecule, in addition to promoting inflammation, also acts in purinergic signaling. These data suggest that the purinergic system is modulated in order to maintain high ATP concentrations in order to modulate the inflammatory response by stimulating it, however, it is necessary to perform analyzes of the other components of the purinergic system to elucidate the pathways and use this modulation as a therapeutic target.

Keywords: breast cancer; purinergic system; adenosine triphosphate; inflammation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Quantificação de Adenosina Trifosfato.....	28
Figura 2	Hidrólise de Adenosina Trifosfato.....	29
Figura 3	Hidrólise de Adenosina Difosfato.....	30
Figura 4	Correlação entre quantificação e hidrólise de Adenosina Trifosfato no grupo de pacientes.....	30
Figura 5	Correlação entre quantificação e hidrólise de Adenosina Trifosfato no grupo controle.....	31
Figura 6	Correlação entre hidrólise de Adenosina Trifosfato de Adenosina Difosfato no grupo de pacientes.....	32
Figura 7	Correlação entre hidrólise de Adenosina Trifosfato de Adenosina Difosfato no grupo de pacientes.....	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Caracterização dos indivíduos.....	27
Tabela 2	Caracterização das doenças crônicas do grupo estudado.....	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ado	Adenosina
ADP	Difosfato de adenosina
AMP	Monofosfato de adenosina
AMPc	Monofosfato de adenosina cíclico
ATP	Adenosina trifosfato
AURKA	Aurora Kinase A
CD39	Trifosfato Difosfohidrolase 1
CD73	Ecto-5'-nucleotidase
CDI	Carcinoma Ductal Invasivo
CM	Câncer de mama
EROS	Espécies Reativas de Oxigênio
IHC	Imuno-histoquímica
INCA	Instituto Nacional do Câncer
Ki67	Índice de Proliferação Celular
NTPDase	Nucleosídeo Trifosfato Difosfohidrolase
NTPDase 1	Trifosfato Difosfohidrolase 1
SP	Sistema purinérgico
UDP	Uridina Difosfato
UTP	Uridina Trifosfato

HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
Ca ²⁺	Cálcio
AC10	Adenilato Ciclase
MMP 13	Matrix Metalloproteinase 13

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVO	16
2.1 OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3 REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1 O CÂNCER DE MAMA	17
3.1.1 Classificação do Câncer de Mama	18
3.1.2 Diagnóstico, estadiamento e fatores de risco	19
3.2 O SISTEMA PURINÉRGICO	20
3.3 O SISTEMA PURINÉRGICO NO CÂNCER DE MAMA	22
4 MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1 TIPO DE ESTUDO	23
4.2 LOCAL DE ESTUDO	23
4.3 AMOSTRA	23
4.3.1 Critérios de inclusão e exclusão	23
4.4 COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO	24
4.4.1 Processamento do material biológico	24
4.5 QUANTIFICAÇÃO DE ATP	25
4.6 HIDRÓLISE DE ATP E ADP	25
4.7 ANÁLISE DOS PRONTUÁRIOS	25
4.8 ANÁLISE DE DADOS	25
4.9 ASPECTOS ÉTICOS	26
5 RESULTADOS	27
5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS PARTICIPANTES	27
5.2 QUANTIFICAÇÃO DE ATP	28
5.3 TAXA DE HIDRÓLISE DE ADENOSINA TRIFOSFATO	29
5.4 TAXA DE HIDRÓLISE DE DIFOSFATO DE ADENOSINA	29
5.5 CORRELAÇÃO DA HIDRÓLISE E QUANTIFICAÇÃO DE ATP EM MULHERES COM CÂNCER DE MAMA	30
5.6 CORRELAÇÃO DA HIDRÓLISE E QUANTIFICAÇÃO DE ATP EM MULHERES SAUDÁVEIS	31

5.7 CORRELAÇÃO DA HIDRÓLISE DE ATP E HIDRÓLISE DE ADP EM PACIENTES	32
5.8 CORRELAÇÃO DA HIDRÓLISE DE ATP E HIDRÓLISE DE ADP NO GRUPO CONTROLE	32
6 DISCUSSÃO	34
7 CONCLUSÃO	37
REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

O câncer é um problema de saúde pública mundial tanto pela alta incidência quanto pelo índice elevado de mortalidade associado. Nesse cenário, o câncer de mama (CM) é o terceiro do mundo em incidência, ficando atrás das neoplasias de pulmão e cólon (ARAÚJO *et al.*, 2021). Em 2020, mais de duas milhões de pessoas foram diagnosticadas com CM em todo o mundo e mais de 680 mil perderam a vida (GLOBOCAN, 2020).

No Brasil, segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA) estima-se que sejam diagnosticados mais de 73 mil novos casos de câncer de mama por ano no triênio 2023. Ainda, salienta-se que a região sul é a quarta do país em risco para o desenvolvimento de CM com uma taxa de 41,06/100 mil (INCA, 2022b).

O CM é uma doença multifatorial. A doença inicia com a multiplicação anormal das células, que pode ocorrer em diversos tecidos mamários, sabe-se que 80% dos casos iniciam no epitélio do ducto mamário (ARAÚJO *et al.*, 2021). Outro ponto importante é a capacidade de invasão de outros tecidos, denominada metástase, esse fenômeno geralmente inicia pela via linfática e encontra outros tecidos do corpo (SCULLY *et al.*, 2012).

O sistema purinérgico (SP), por sua vez, conceitua-se como uma via de regulação da homeostase imunológica através de diversas moléculas e receptores, destacando-se a produção de quimiocinas, citocinas e espécies reativas de oxigênio (EROs) (ANTONIOLI *et al.*, 2019). O sistema em questão foi descrito na década de 70 e já se sabe que possui relação com diversas neoplasias, inclusive o CM (BURNSTOCK, 2009).

A adenosina trifosfato (ATP) é uma das moléculas sinalizadoras mais importantes do SP, pois atua como um sinal de alerta, ativando as células imunes para combater microorganismos, iniciar respostas de reparo tecidual e encontrar e fagocitar células apoptóticas, este processo metabólico definiu-se como papel inflamatório do ATP (GHELER *et al.*, 2021). Além disso, o SP atua convertendo o ATP extracelular em adenosina (Ado), por meio de um processo de degradação realizado pelas ectoenzimas ectonucleosídeo difosfohidrolase (NTPDase, sendo que a NTPDase 1 é conhecida também pela sigla CD39) e ecto-5'-nucleotidase (CD73) (BURNSTOCK, 2009).

A CD39 converte ATP em Difosfato de Adenosina (ADP), e este em monofosfato de adenosina (AMP), enquanto que a CD73 converte AMP em Ado. A

Ado extracelular é um metabólito imunossupressor que protege os tecidos contra a inflamação excessiva. No microambiente tumoral, a Ado suprime a imunidade antitumoral, essencialmente através dos receptores de Ado, A2A e A2B (BUISSERET *et al.*, 2017). Nesse viés, estudos buscam modular essa sinalização como tentativa de tratamento para a doença.

Ademais, o sistema estudado é composto por diversos receptores subdivididos em duas famílias P1 e P2. Destaca-se para este estudo os receptores P2X que são expressos em uma variedade de células e atuam como canal de membrana o qual permite o influxo de Na^+ e Ca^{2+} e o efluxo de K^+ , ativados pelo ATP extracelular para regular a proliferação, diferenciação e migração celular. O receptor P2X7 possui papel importante na carcinogênese e, portanto, é de grande valia para desvendar o papel do sistema no CM. Esse receptor configura-se como um canal iônico dependente de ATP e estudos demonstram que a superexpressão está ligada ao surgimento e progressão tumoral e seu bloqueio pode ser uma via efetiva de tratamento para as doenças neoplásicas (HE *et al.*, 2021).

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar componentes do sistema purinérgico em linfócitos e soro de mulheres com câncer de mama em comparação com mulheres saudáveis.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a quantificação de ATP nas pacientes em relação ao grupo controle;
- Avaliar a atividade enzimática da ectonucleotidase NTPDase 1 através da análise de hidrólise de ATP e ADP nas pacientes em relação ao grupo controle;
- Correlacionar as análises de quantificação de ATP com a hidrólise desta molécula em ambos os grupos;
- Correlacionar as hidrólises de ATP e ADP das pacientes e do grupo controle.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 O CÂNCER DE MAMA

O CM é uma neoplasia caracterizada pelo crescimento irregular de células, causado por inúmeras alterações no material genético e na expressão gênica. Além disso, o tecido mamário é sensível ao desenvolvimento de câncer por várias razões, dentre estas, destaca-se o hormônio feminino estrogênio, o qual estimula a divisão das células mamárias (FORCADOS *et al.*, 2017).

Nesse contexto, o CM é o mais comumente diagnosticado entre as mulheres, e a principal causa de morte. Essa neoplasia caracteriza-se como uma doença multifatorial, sendo a idade acima dos 50 anos, além de fatores genéticos, menopausa tardia, obesidade, sedentarismo e exposições frequentes a radiações ionizantes, destacam-se como fatores mais relevantes no surgimento da doença (INCA, 2020).

O CM ocorre quando há crescimento celular desregulado dentro de qualquer um dos componentes da mama (lóbulos, ductos, tecido adiposo e tecido linfático). Entretanto, cerca de 80% dos casos começam no epitélio do ducto mamário. Esse crescimento desregulado começa com modificações no ciclo celular, devido a alterações na informação genética, resultando inicialmente em um nódulo mamário indolor (ARAÚJO *et al.*, 2021).

Com o avanço dos estudos, há diversos métodos de tratamento para a doença, sendo estes locais ou sistêmicos. Atualmente, a abordagem terapêutica advém do estadiamento do tumor, nesse sentido, variam desde cirurgias de ressecção até terapias de atuação ampla no organismo como, por exemplo, a quimioterapia (BRASIL, 2022).

Ademais, existem terapias com o objetivo de prevenção, essas são restritas a indivíduos com propensão para o desenvolvimento da doença. O uso de anti estrogênio, como raloxifeno e tamoxifeno para essa finalidade são amplamente utilizados. Além disso, a cirurgia de ambas as mamas, chamada de mastectomia radical, é uma medida preventiva adicional para mulheres cuja probabilidade de desenvolver o CM é aumentada (AKRAM *et al.*, 2017).

3.1.1 Classificação do Câncer de Mama

Os cânceres de mama são heterogêneos, apresentando características morfológicas e biológicas variáveis, justificando os diferentes comportamentos clínicos em resposta ao tratamento instituído (TSANG *et al.*, 2019). A forma mais disseminada de classificação dos tumores de mama é em invasivo e não invasivo, sendo subdividido em subtipos histológicos diferentes. O CM não invasivo ocorre quando o tumor não se estende para além do tecido onde se situa. Já no CM invasivo, as células neoplásicas se disseminam pelos tecidos próximos (AKRAM *et al.*, 2017).

Salienta-se que as células que sofreram mutações e, portanto, são cancerosas, podem se disseminar dos tecidos mamários para diferentes partes do corpo, através do sistema linfático ou da circulação sistêmica, processo conhecido como metástase (AKRAM *et al.*, 2017).

Clinicamente, o CM é definido por sua aparência histopatológica e expressão de receptores hormonais e fatores de crescimento. A literatura apresenta três receptores utilizados para a classificação de tumores, o receptor de estrogênio (ER), o receptor de progesterona (PR) e o receptor de fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER2). Posto isso, nota-se que o tumor ER positivo está aumentando em incidência significativamente nos últimos anos, corroborando com os estudos que apontam a participação do hormônio na carcinogênese do CM (BRITT; CUZICK; PHILLIPS, 2020).

Quanto à classificação molecular, o CM pode ser dividido em subtipos com base nos níveis de expressão gênica de alguns marcadores. Nesse sentido, os estudos apontam quatro subtipos intrínsecos principais: Luminal A, Luminal B, HER2 positivo e *basal-like* ou triplo negativo (TNBC) (ŁUKASIEWICZ *et al.*, 2021).

Os CM luminais são tumores ER positivos que abrangem quase 70% de todos os casos de CM na população. Os tumores luminais A apresentam baixa expressão de genes relacionados à proliferação celular, sendo que clinicamente são de crescimento lento e tendem a ter um bom prognóstico. Os tumores luminais B têm pior prognóstico, além disso, possuem alta expressão de genes relacionados à proliferação celular, por exemplo, índice de proliferação celular (Ki67) e Aurora Kinase A (AURKA) (ŁUKASIEWICZ *et al.*, 2021).

O subtipo HER2 positivo exhibe alta expressão de HER2 e proliferação de genes relacionados, e, geralmente, são negativos para expressão de receptores

hormonais. Os tumores TNBC constituem aproximadamente 15% de todos os tipos de câncer de mama, e têm pior prognóstico, não expressando receptores hormonais nem HER2. Recentemente, um novo subtipo, classificado como baixa claudina, também foi identificado como triplo negativo (HER2, ER, PR negativos), mas difere do *basal-like* pelo baixo expressão de Ki67 e alta expressão de genes relacionados à transição química epitelial (HECHT *et al.*, 2021).

3.1.2 Diagnóstico, estadiamento e fatores de risco

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), melhorar os resultados e a sobrevivência do CM pela detecção precoce continua sendo a base mais importante na prevenção e tratamento da doença (AKRAM *et al.*, 2017). No Brasil, é preconizado ao menos uma mamografia a cada dois anos para mulheres com idade entre 50 e 69 anos que não apresentem sinais e/ou sintomas de CM, essa conduta é primordial no rastreamento e descoberta precoce deste tipo de tumor (INCA, 2022a).

No que se refere ao diagnóstico, a mamografia é um método de triagem eficaz que utiliza raios-X de baixa energia para obter imagens de alta resolução da mama, e não requer nenhum agente de aumento de contraste. Além disso, destaca-se que algumas mulheres não toleram o exame supracitado e nesse quesito, a ultrassonografia torna-se essencial no rastreamento e diagnóstico. Outro exame de imagem utilizado é a ressonância magnética (RM), mais sensível que a mamografia e por isso muito indicado para mulheres de alto risco, especialmente na detecção do carcinoma ductal invasivo (CDI). Considerando sua sensibilidade, a RM pode ser uma escolha útil na investigação de casos de difícil diagnóstico (SUN *et al.*, 2017).

A Imuno-histoquímica (IHC) tornou-se um componente importante no diagnóstico do CM. Esse teste baseia-se em uma reação antígeno-anticorpo, e a partir dele é possível definir o perfil molecular tumoral, ou seja, determinar os tipos de proteínas expressas, possibilitando assim uma conduta terapêutica personalizada. Embora a coloração da peça tumoral com hematoxilina e eosina seja a base primária para o diagnóstico das patologias da mama, os exames de IHC do ER, PR, HER2 entre outros, fornecem informações valiosas que auxiliam no diagnóstico diferencial dos diferentes tipos de tumor, especialmente em relação aos subtipos moleculares (AKRAM *et al.*, 2017).

Atualmente existem diversas terapêuticas instituídas para o CM, dessa maneira o tratamento elencado está intimamente ligado a fase em que a doença se encontra e o tipo de tumor (BRASIL, 2022). O tratamento considerado tradicional inclui mastectomia e/ou tumorectomia associada ao tratamento pós-operatório adjuvante. No tocante a fase da doença, esta é descrita de acordo com o estadiamento, que varia de 0 que significa carcinoma *in situ*, e se estende de I a IV, onde quanto mais alto o estadiamento mais avançada está a doença (ONCOGUIA, 2020).

A conduta habitual nas fases iniciais (estágios I e II) é a cirurgia, que pode ser conservadora (retirada apenas do tumor) ou mastectomia (retirada da mama) parcial ou total. Em pacientes com tumores maiores que 5 cm (estágio III), o tratamento sistêmico na maioria das vezes ocorre com quimioterapia, e após segue-se com o tratamento local com cirurgia e radioterapia. Na fase da metástase (estágio IV) é fundamental buscar o equilíbrio entre o controle da doença e o possível aumento da sobrevida (BRASIL, 2022).

Quanto aos fatores de risco relacionados, destaca-se que a doença é multifatorial e composta por fatores modificáveis e não modificáveis. Contudo, alguns fatores prevalecem como os mais relacionados a esta patologia, sendo eles o sexo feminino e o envelhecimento. Além disso, um quarto de todos os casos de CM estão relacionados à história familiar. Assim, mulheres cuja mãe ou irmã foram diagnosticadas, são mais propensas a desenvolver a doença (SUN *et al.*, 2017).

3.2 O SISTEMA PURINÉRGICO

O sistema purinérgico é um sistema enzimático envolvido na regulação da homeostase imunológica. Sua ação ocorre através da secreção de citocinas, quimiocinas, remoção de patógenos intracelulares, liberação de antígenos e geração de EROs. Quando ocorre algum tipo de lesão celular, os mediadores purinérgicos são liberados (ARAÚJO *et al.*, 2021).

Esse sistema é composto por diversas enzimas que atuam na hidrólise do ATP. São elas enzimas moduladoras como a NTPDase 1 (CD39) que hidrolisa ATP a ADP e ADP a AMP, a CD73, capaz de gerar Ado, as ENPPs que hidrolisam o ATP diretamente à AMP e a adenosina desaminase (ADA) que hidrolisa Ado em inosina e hipoxantina (ARAÚJO *et al.*, 2021; BOISON, 2012). Salienta-se que a ADA funciona

como catalisadora das reações de desaminação da Ado, ou seja, é capaz de acelerar a degradação de seus derivados. (BOISON, 2012).

Ainda, é necessário entender que o sistema purinérgico possui uma gama de receptores que são capazes de modular a sinalização extracelular, através da ligação dos nucleotídeos ou nucleosídeo de Ado aos seus receptores específicos. Nesse sentido, dividem-se os receptores em duas famílias: família P1 de receptores que respondem à Ado, e família P2 de receptores que respondem à nucleotídeos. A família P1 é composta por quatro subtipos de receptores: A1, A2A, A2B e A3; a família P2 é subdividida em receptores ionotrópicos (classe P2X) e metabotrópicos (classe P2Y) (ARAÚJO *et al.*, 2021).

Em relação à família P1, sabe-se que os subtipos mais expressos nas células tumorais são A3 e A2B, e que no CM eles atuam no aumento da motilidade das células tumorais e induzem migração e metástase, respectivamente (ARAÚJO *et al.*, 2021). Os receptores da família P2 têm o ATP como principal molécula estimuladora. Os receptores P2X são subdivididos em sete grupos, P2X1 até P2X7, eles são canais iônicos permeáveis para sódio (Na⁺), potássio (K⁺) e cálcio (Ca²⁺), sendo o ATP o único ligante que os ativa. Em tumores, o receptor P2X7 é o mais expresso e auxilia na disseminação de metástases e invasão de células cancerosas (ARAÚJO *et al.*, 2021). Os receptores P2Y, em geral, tendem a promover a migração e contribuir para a formação de nichos metastáticos, esse grupo é composto por oito subtipos de receptores: P2Y1, P2Y2, P2Y4, P2Y6, P2Y12, P2Y13, P2Y1 e P2Y11. Esses receptores têm preferência de ativação por ADP, Uridina Difosfato (UDP) e Uridina Trifosfato (UTP), com exceção do P2Y11 em que o ATP é o ligante principal (ARAÚJO *et al.*, 2021).

Dessa forma, o sistema purinérgico atua convertendo o ATP extracelular em Ado, por meio de um processo de degradação realizado pelas ectoenzimas NTPDase, principalmente a CD39 e ecto-5'-nucleotidase, principalmente a CD73. (ARAÚJO *et al.*, 2021).

O ATP atua como um sinal de alerta no ambiente extracelular, ativando as células imunes para combater microorganismos, iniciar respostas e eliminar invasores. Os nucleotídeos (ATP, ADP, UTP e UDP) e nucleosídeo (Ado) são caracterizados como mensageiros extracelulares, salienta-se que eles estão presentes no organismo em situações de homeostase, contudo em situações estressoras a liberação é aumentada (GHELER *et al.*, 2021).

A enzima CD73 e os receptores de Ado a jusante estão emergindo como alvos terapêuticos atraentes para promover respostas imunes antitumorais. O CD73 é expresso na superfície de células tumorais, células estromais e células imunes. A Ado extracelular é um metabólito imunossupressor que protege os tecidos contra a inflamação excessiva. No microambiente tumoral, a Ado suprime a imunidade antitumoral, essencialmente através dos receptores A2A e A2B (BUISSERET *et al.*, 2017).

3.3 O SISTEMA PURINÉRGICO NO CÂNCER DE MAMA

O ATP e seus produtos têm atuação bifásica conhecida no CM. Pesquisas recentes identificaram um dos papéis dos receptores P2X7 e A2A no CM, frente ao ATP extracelular vindo de osteócitos (JIANG; RIQUELME; ZHOU, 2015). Segundo o estudo de Zhou, o ATP liberado por células não-tumorais de osteócitos se liga a receptores P2X7 das células tumorais, inibindo o crescimento do CM, migração e metástase óssea (ZHOU *et al.*, 2015). Assim, essa molécula pode também configurar como alvo terapêutico.

Devido à instabilidade, o ATP é hidrolisado em ADP e AMP pela CD39, e em Ado pela CD73, expressas em células tumorais da mama. A Ado se liga ao receptor A2A, o que repercute no crescimento do câncer e sua metastização. Em baixas concentrações, o ATP tem efeito inibitório sobre a migração de células de CM, porém quando em maior quantidade possui um efeito estimulatório (ZHOU *et al.*, 2015).

Altas concentrações de ATP em tecido mamário têm responsabilidade pela morte celular P2X7-dependente, enquanto que pequenas concentrações de P2X7 foram responsáveis por mudanças morfológicas que levam à aquisição de um fenótipo pró-migratório (JELASSI *et al.*, 2011). Avanzato e colaboradores (2016) apresentaram o receptor P2Y11 como contribuinte na regulação da migração de células de CM. Nesse sentido, as proteínas-G acopladas a estes receptores liberam o íon Ca^{2+} dos compartimentos intracelulares, assim como os receptores P2X7 aumentam a entrada de íons de Ca^{2+} extracelulares, o que, segundo o estudo, é um mecanismo que favorece a migração de células cancerosas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de estudo transversal, de análise quantitativa, do tipo caso-controle.

4.2 LOCAL DE ESTUDO

O estudo foi realizado no município de Chapecó, Santa Catarina (SC), a coleta de dados e amostras biológicas ocorreu no serviço público de referência para tratamento oncológico da região, sendo este a Associação Hospitalar Lenoir Vargas Ferreira - Hospital Regional do Oeste (HRO). As mulheres saudáveis (controles) foram selecionadas através de mídias eletrônicas, onde as intervenções eram agendadas e ocorriam nas residências dos voluntários.

4.3 AMOSTRA

A amostra foi composta de 69 indivíduos, sendo um grupo de mulheres com CM (N= 36) e outro por mulheres saudáveis (N= 33). Estas foram selecionadas por amostragem não probabilística de acordo com o pesquisador que estava realizando a coleta, chamada de amostra por conveniência, onde são selecionados os membros participantes mais acessíveis no momento (OLIVEIRA, 2001).

4.3.1 Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídas no estudo pacientes do sexo feminino procedentes do oeste de SC, diagnosticadas por médico especialista com carcinoma mamário, maiores de 18 anos de idade, que seriam submetidas a procedimentos cirúrgicos para retirada do tumor, dado que além da amostra sanguínea o objetivo também era coletar amostra do tecido tumoral para realização de análises do microambiente tumoral no projeto guarda-chuva. Outro critério importante neste grupo é que estas mulheres não poderiam ser submetidas a nenhum tipo de terapia neoadjuvante (quimioterapia, radioterapia, hormonioterapia, imunoterapia, terapia de precisão), pois estas terapias variam entre cada paciente e poderiam gerar viés a este estudo, visto que refere-se a um estudo sistêmico dos componentes do SP. Além disso, excluiu-se as mulheres com diagnóstico anterior de câncer.

O grupo controle foi composto através do pareamento por sexo e idade (mais ou menos 3 anos) em relação às pacientes, sem diagnóstico passado ou atual de câncer de qualquer tipo.

4.4 COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO

No grupo com CM a coleta de tecido sanguíneo foi realizada na antessala do bloco cirúrgico por profissionais da enfermagem habilitados ou no momento da venóclise, realizada pelo médico anestesiológico. No que tange às participantes do grupo controle as coletas eram realizadas no domicílio da voluntária após abordagem por mídia social em função da pandemia de Covid-19, a coleta era realizada por um profissional de enfermagem habilitado. A amostra sanguínea continha no mínimo 20 ml de sangue total em tubos *vacutainer* com EDTA (isolamento de linfócitos) e em tubos sem anticoagulante (separação do soro).

4.4.1 Processamento do material biológico

O transporte das amostras sanguíneas do HRO para o laboratório de pesquisa da UFFS *campus* Chapecó foi realizado pelos pesquisadores responsáveis, em recipiente adequado (caixas de isopor). As amostras ficaram armazenadas em geladeira até o momento do processamento, com os respectivos registros de monitoramento e controle, observando preferencialmente o tempo máximo de 8 (oito) horas, não excedendo 24 (vinte e quatro) horas, contadas a partir do fim da coleta.

Para obtenção dos linfócitos, as amostras de sangue coletadas com EDTA foram diluídas em volume igual de solução salina. Posteriormente a amostra diluída foi transferida para um tubo cônico contendo Lymphoprep (Ficol-Histopaque), seguida de centrifugação a 1800 rotações por minuto (rpm), em temperatura ambiente, por 30 minutos. Após a centrifugação, houve a formação de um gradiente de densidade. Desta maneira, forma-se uma camada intermediária composta pelas células mononucleares (linfócitos e monócitos) entre as camadas de plasma e Ficol. Esta nuvem de células foi cuidadosamente retirada com pipeta de Pasteur sobre a camada superior (plasma) e transferida para tubo cônico limpo. Sobre as células foi acrescentada salina seguida por centrifugação de 10 minutos a 1500 rpm. Em seguida, descartamos o sobrenadante e acrescentamos salina até a lavagem das

células e remoção das plaquetas. Se necessário pode ser acrescentado tampão hemolítico EDTA-Cloreto de Amônio para remoção das hemácias.

Para obtenção do soro, o sangue total dos tubos sem anticoagulante foi centrifugado por 15 minutos a 3.500 rpm. Após isso, o sobrenadante foi retirado e armazenado. Em ambos os processos o conteúdo final é aliquoteado em eppendorfs, identificados com os códigos de cada paciente e depois foram alocados em caixas de papel também identificadas e levados ao ultra-freezer em uma temperatura de -80°C onde ficaram armazenados até o dia das análises.

4.5 QUANTIFICAÇÃO DE ATP

As análises de quantificação de ATP extracelular foram realizadas através de kits ATP Determination (Invitrogen®), seguindo as instruções do fabricante. O material biológico utilizado foi o soro. Ademais, a análise fotométrica foi realizada utilizando um leitor de microplacas Varioskan (ThermoScientific®).

4.6 HIDRÓLISE DE ATP E ADP

Para a análise da atividade enzimática da NTPDase-1 (CD39) utilizou-se o protocolo adaptado de Leal e colaboradores (2005). Logo após, foi realizada análise fotométrica utilizando um leitor de microplacas Varioskan (ThermoScientific®).

4.7 ANÁLISE DA CARACTERIZAÇÃO DOS INDIVÍDUOS

As informações do grupo CM foram obtidas a partir dos prontuários médicos, enquanto as informações do grupo controle foram obtidas através de conversa no momento da coleta de material biológico. Coletaram-se dados em relação à idade, história familiar de câncer e comorbidades (hipertensão, síndrome metabólica, diabetes, entre outras).

4.8 ANÁLISE DE DADOS

Os dados foram tabulados e analisados primariamente utilizando o aplicativo Microsoft EXCEL 2010, e após, as análises estatísticas foram realizadas com o software GraphPad Prism 8 (Prism 8.0.1, GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

Os dados obtidos foram primeiramente testados quanto a sua normalidade, e em seguida analisados pelos métodos estatísticos do Teste T de Student, Teste de Mann Whitney e através da correlação de Pearson para avaliação de associações entre as variáveis pesquisadas. O nível de significância utilizado foi de $p < 0,05$. Para o estudo foram eliminados os *outliers*.

4.9 ASPECTOS ÉTICOS

A presente pesquisa faz parte de um projeto guarda-chuva intitulado “Banco de biópsias para avaliação da expressão gênica e protéica dos receptores e enzimas do sistema purinérgico com ênfase em tumores de mama, próstata e colorretal”, que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFFS (CEP-UFFS), sob parecer nº 3.421.380 e CAAE nº 09306919.5.0000.5564. Os indivíduos participantes tiveram que assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) antes de iniciar sua participação na pesquisa.

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS PARTICIPANTES

O estudo foi composto apenas por mulheres e subdividido em dois grupos: o de pacientes (n=36) que possui idade média de 57 anos. Outrossim, 63% delas possui histórico familiar de algum tipo de neoplasia, nesse estudo foi considerado apenas parentesco de primeiro grau para este dado. Além disso, foi possível visualizar que das mulheres com histórico de câncer na família, 32% eram de origem mamária e as demais neoplasias informadas eram de origem difusa. No que tange às doenças crônicas, 63% do grupo apresentam alguma comorbidade, as mais frequentes são hipertensão arterial sistêmica (HAS) com 78%, e dislipidemia, com 34% de prevalência.

No tocante ao grupo controle (n=33), a média de idade é de 60 anos e não foi investigado pela pesquisa o histórico familiar de neoplasias. No que se refere às comorbidades, 33% dos participantes possuem doenças crônicas, a mais prevalente é a HAS em 72% do grupo acometido.

Tabela 1 - Caracterização dos indivíduos

	Idade	Histórico familiar	
	(n)	CA de mama	Outras neoplasias
Grupo controle	60±12,86 anos (33)	-	-
Grupo pacientes	57±12,73 anos (36)	32% (9)	68% (23)

Dados expressos em média, desvio padrão (\pm), número (n), porcentagem (%) e dados não coletados (-).

Tabela 2 - Caracterização das doenças crônicas do grupo estudado

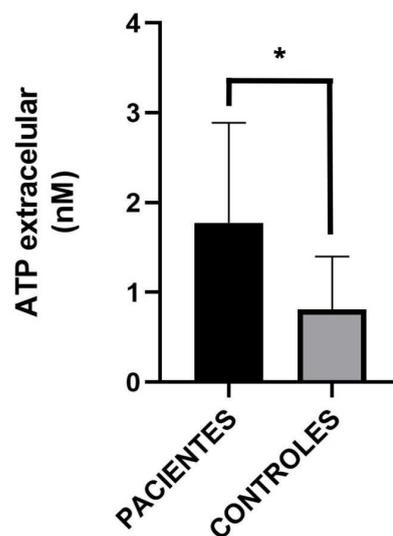
	Grupo controle	Grupo pacientes
	(n)	(n)
HAS	21% (7)	44% (16)
HAS + DM	6% (2)	5,5% (2)
Dislipidemia	3% (1)	22% (8)
Outras	18% (6)	22% (8)

Número (n), porcentagem (%), Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) e Diabetes Mellitus (DM).

5.2 QUANTIFICAÇÃO DE ATP

Na figura 1 observa-se o resultado da análise de quantificação de ATP. No grupo controle foram 29 indivíduos, média 0,82 nM e desvio padrão de 0,86 e em mulheres com câncer de mama (n= 33), média 1,97 nM e desvio padrão de 1,94. O Teste T de Student revelou que a diferença entre os grupos é estatisticamente significativa (p=0,0001).

Figura 1 - Quantificação de ATP



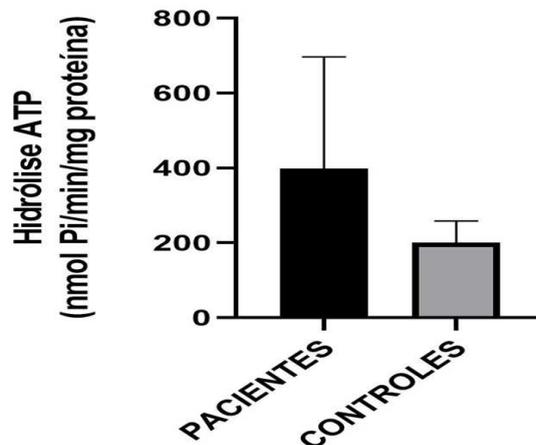
As barras representam o desvio padrão da média;

*denota diferença significativa ($p \leq 0,05$) do grupo de pacientes em relação ao grupo controle de acordo com o Teste T de Student.

5.3 TAXA DE HIDRÓLISE DE ADENOSINA TRIFOSFATO

A taxa de hidrólise de ATP está ilustrada na figura 2. Participaram desta análise 19 controles, média 107,77 nmol Pi/min/mg proteína e desvio padrão de 566,12 nmol Pi/min/mg proteína e 17 pacientes, média 357,33 nmol Pi/min/mg proteína e desvio padrão de 1080,01 nmol Pi/min/mg proteína. O teste Mann Whitney não identificou diferença significativa entre os grupos ($p=0,0656$).

Figura 2 - Hidrólise de ATP



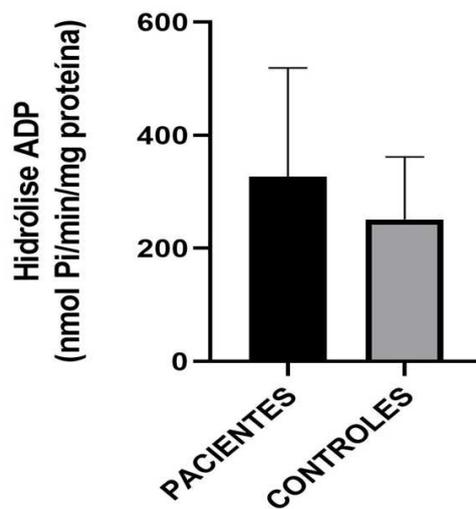
As barras representam o desvio padrão da média;

*denota diferença significativa ($p \leq 0,05$) do grupo de pacientes em relação ao grupo controle de acordo com o Teste Mann Whitney.

5.4 TAXA DE HIDRÓLISE DE DIFOSFATO DE ADENOSINA

A taxa de hidrólise de ADP está ilustrada na figura 3. Participaram desta análise 21 participantes do grupo controle, média 198,76 nmol Pi/min/mg proteína e desvio padrão de 1039,77 nmol Pi/min/mg proteína e 15 pacientes, média 572,28 nmol Pi/min/mg proteína e desvio padrão de 1398,36 nmol Pi/min/mg proteína. O teste T Student não identificou diferença significativa entre os grupos ($p=0,1443$).

Figura 3 - Hidrólise de ADP



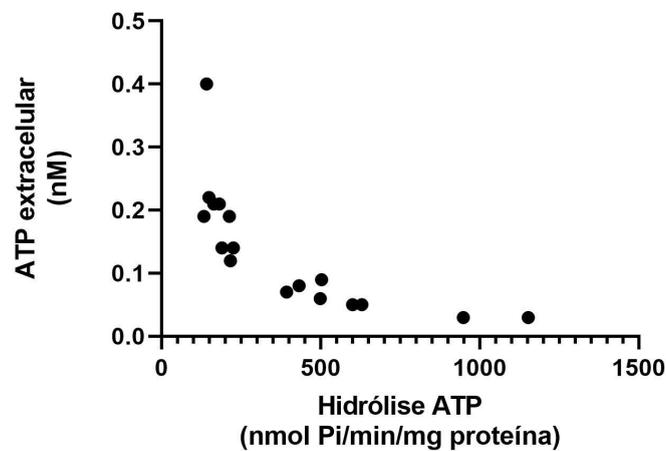
As barras representam o desvio padrão da média;

*denota diferença significativa ($p \leq 0,05$) do grupo de pacientes em relação ao grupo controle de acordo com o Teste T de Student.

5.5 CORRELAÇÃO DA HIDRÓLISE E QUANTIFICAÇÃO DE ATP EM MULHERES COM CÂNCER DE MAMA

Nesta análise foram incluídas 17 pacientes a fim de avaliar se existe relação entre a quantidade de ATP circulante e a hidrólise desta molécula, para isso os dados foram submetidos ao teste de Correlação de Pearson ($p=0,0008$) que revelou uma correlação negativa (figura 4).

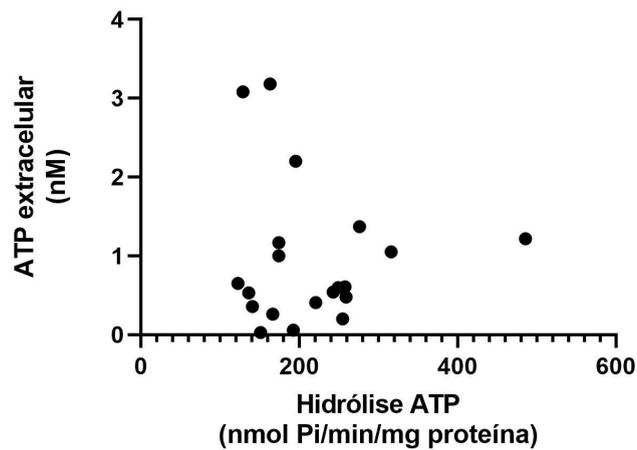
Figura 4 - Correlação entre quantificação e hidrólise de ATP no grupo de pacientes



5.6 CORRELAÇÃO DA HIDRÓLISE E QUANTIFICAÇÃO DE ATP EM MULHERES SAUDÁVEIS

A análise contou com 20 participantes, os dados foram submetidos ao teste de Correlação de Pearson que revelou não haver correlação entre as análises ($p=0,7052$) (figura 5).

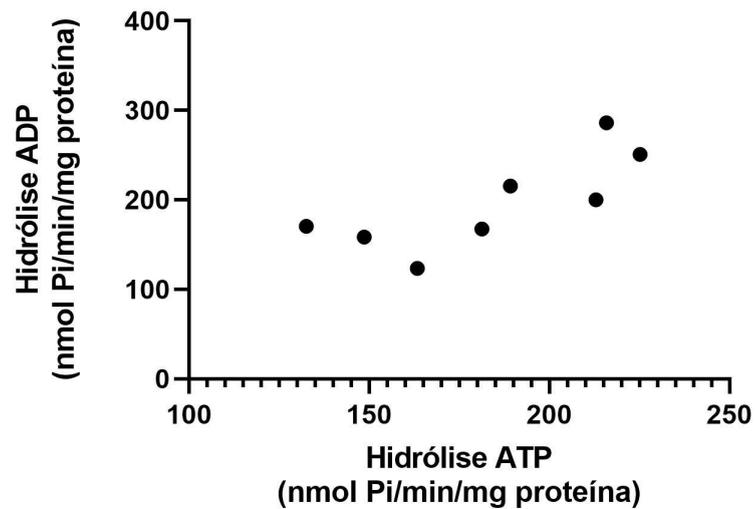
Figura 5 - Correlação entre quantificação e hidrólise de ATP no grupo controle



5.7 CORRELAÇÃO DA HIDRÓLISE DE ATP E HIDRÓLISE DE ADP EM PACIENTES

Nesta análise foram incluídos 8 pacientes a fim de avaliar se existe relação entre a hidrólise de ATP e a hidrólise de ADP, podendo assim avaliar a atividade enzimática da NTPDase 1. Para isso, os dados foram submetidos ao teste de Correlação de Pearson que revelou uma correlação positiva ($p=0,0262$) (figura 6).

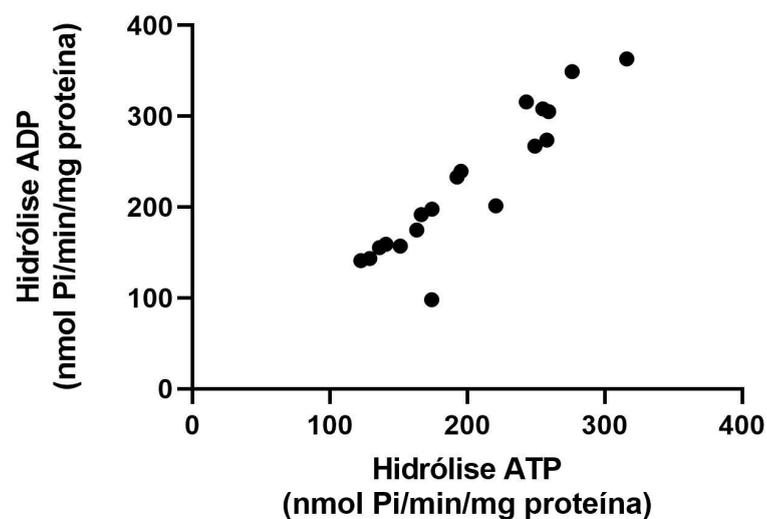
Figura 6 - Correlação entre hidrólise de ATP e de ADP no grupo de pacientes



5.8 CORRELAÇÃO DA HIDRÓLISE DE ATP E HIDRÓLISE DE ADP NO GRUPO CONTROLE

Nesta análise foram incluídos 19 participantes controles a fim de avaliar se existe relação entre a hidrólise de ATP e a hidrólise de ADP, podendo assim avaliar a atividade enzimática da NTPDase 1. Para isso, os dados foram submetidos ao teste de Correlação de Pearson que revelou uma correlação positiva forte ($p < 0,0001$) (figura 7).

Figura 7 - Correlação entre hidrólise de ATP e de ADP no grupo controle



6 DISCUSSÃO

Este trabalho teve como objetivo compreender se os níveis sistêmicos de ATP são afetados pelo CM e como isso repercute na sinalização purinérgica, além disso buscou verificar indiretamente a atividade enzimática da CD39 através da hidrólise de ATP e ADP.

Em relação à história familiar, o presente estudo revelou que mais de 30% das mulheres com CM possuíam parentesco de primeiro grau com indivíduos que desenvolveram a mesma doença. Posto isso, o estudo de Liu e colaboradores (2021) demonstrou que a relação entre o histórico familiar e o desenvolvimento de CM varia de 5 a 10% dos casos. Dessa forma, denota-se que a diferença entre os dados obtidos e o já descrito no estudo supracitado justifica-se a partir da abrangência dos estudos, visto que, o número de participantes é exponencialmente menor na presente pesquisa.

Outro ponto do estudo que corrobora com a descrição da literatura é a idade de predominância da doença, visto que o grupo de pacientes tem média de idade de 57 anos. Este dado reforça a importância do rastreamento preconizado pelo Ministério da Saúde (MS) a partir dos 50 anos para todas as mulheres, de modo a garantir a detecção precoce da doença e aumento da sobrevida (INCA, 2015).

Como previsto, a quantidade de ATP em mulheres com diagnóstico de CM foi estatisticamente maior do que o encontrado no grupo controle ($p=0,0001$). Nesse sentido, o resultado corrobora com os estudos da temática que descrevem o aumento dos níveis sistêmicos da molécula como fator pró-inflamatório e participante da carcinogênese (JIANG *et al.*, 2015; KEPP *et al.*, 2021). Reitera-se que na forma intracelular, o ATP é uma molécula bioenergética importante, contudo no microambiente tumoral sua função é a de sinalização (KEPP *et al.*, 2021).

Ainda, estudos revelam a dupla função do ATP no ambiente tumoral atuando tanto como ativador do sistema imune quanto na progressão tumoral (DRAGANOV *et al.*, 2015; LACERDA; GONZAGA; MACIEL, 2021). Dessa forma, percebe-se que o crescimento tumoral depende dos elevados níveis de ATP equilibrando a citotoxicidade com a função pró tumoral (DRAGANOV *et al.*, 2015).

No que tange a função imuno ativadora do ATP, entende-se que esta ocorre por meio de uma cascata de ligações. Iniciando pelo acoplamento do ATP no receptor P2X7, permite-se a entrada de Ca^{2+} na célula, que por sua vez se liga a enzima Adenilato Ciclase (AC10), ativando o aumento da produção de monofosfato

de adenosina cíclico (AMPC), isso leva ao remodelamento do citoesqueleto e consequentemente inibe a migração de células de CM. Outro ponto importante é que a afinidade entre ATP e P2X7 não é elevada, e, nesse sentido, somente a alta concentração da molécula no meio extracelular poderia gerar essa ligação (LACERDA; GONZAGA; MACIEL, 2021).

Porém, ainda há possibilidade desta alta concentração de ATP ser um meio de progressão tumoral. Um estudo mostrou que o ATP ligando-se ao receptor P2X7 estimula a migração e invasão das células da linhagem de CM T47D, reduzindo o nível da proteína E-caderina e aumentando a produção de *Matrix Metalloproteinase 13* (MMP-13), que eleva a degradação da matriz extracelular. Esses resultados revelam que essas vias podem estar relacionadas com metástases em CM e ainda apresentam potencial terapêutico (EUN *et al.*, 2015).

O estudo de Draganov e colaboradores (2015) demonstrou que o papel protetor das altas concentrações de ATP para o tumor é transitório e se torna rapidamente citotóxico para as células cancerígenas. No estudo, a Ivermectina foi testada com o objetivo de provocar a morte celular, e levantou-se a hipótese de que esta agiria aumentando a sensibilidade das células tumorais ao ATP, o que consequentemente levaria a um modo misto de morte celular apoptótica e necrótica .

Por outro lado, a presente pesquisa evidenciou que a atividade da NTPDase 1 não variou entre os grupos. Analisou-se também se havia relação entre a hidrólise de ATP e ADP, e evidenciou-se que em ambos os grupos (pacientes: $p=0,0262$; e controles: $p<0,0001$) há uma correlação positiva. Deste modo, quanto maior a hidrólise de ATP, também ocorre o aumento da degradação do ADP, que é o próximo composto da cadeia a ser desfosforilado pela CD39. Os dados mostram que a cadeia de degradação do ATP a ADP, e deste a AMP está funcionando da maneira que se espera.

Nesse sentido, destaca-se que uma das consequências da cadeia purinérgica não sofrer alteração no grupo de pacientes em relação ao grupo controle é a manutenção da inflamação a partir das altas concentrações de ATP, que ao não serem hidrolisadas permanecem no microambiente tumoral. Posto isso, o estudo de Ferro e colaboradores (2020) esclarece que essa concentração exacerbada promove a autofagia que é responsável pela quebra e reciclagem de organelas e proteínas a fim de manter a taxa de proliferação tumoral mesmo em situações estressantes como ausência de oxigênio e nutrientes. Além disso, esse mecanismo

eleva a excreção de citocinas pró-migratórias como a Interleucina-6 (IL-6) e promove a geração de proteínas capazes de aumentar a invasibilidade, a angiogênese e limitar a imunovigilância.

O estudo de Li e colaboradores (2019) testou o bloqueio da enzima CD39 como mecanismo antitumoral. E observou o aumento da capacidade antitumoral em camundongos e *in vivo* através da piroptose de macrófagos intratumorais e da ativação do inflamassoma no ambiente tumoral.

Outro ponto a se discutir é a correlação negativa observada no presente estudo entre a quantificação de ATP e a hidrólise desta molécula ($p=0,0008$), ou seja, no grupo de pacientes quanto maior a quantidade de ATP sistêmico menor a taxa de hidrólise da molécula. No que tange o grupo controle, notou-se que não há relação entre as variáveis, visto que mesmo havendo um nível maior de ATP a hidrólise da molécula manteve-se estável. Nesse viés, levanta-se a hipótese de que o sistema está modulado para não degradar o ATP, visto que seus níveis aumentados favorecem a imuno ativação enquanto os níveis aumentados de Ado favoreceriam a imunossupressão já apontada pelo estudo de Zhulai e colaboradores (2022).

Portanto, evidenciou-se que há uma elevada concentração de ATP sistêmico nas pacientes em relação as controles e que essa molécula além de aumentar a inflamação, atua também na sinalização purinérgica. Em tese, o sistema está modulado de forma a manter as altas concentrações de ATP de forma a modular a resposta inflamatória estimulando-a (GHELER *et al.*, 2021; BUISSERET *et al.*, 2017).

7 CONCLUSÃO

A quantidade de ATP sistêmico é significativamente aumentada em mulheres com CM em relação a mulheres saudáveis. Além disso, foi possível visualizar que a atividade enzimática da molécula de CD39 não varia entre os grupos estudados. Essa associação de fatores está ligada à carcinogênese por mecanismos ainda não esclarecidos, mas alvos de diversas pesquisas. Foi possível visualizar ainda que a hidrólise de ATP e ADP estão intimamente ligadas e que são proporcionais.

Esses resultados reforçam o que a literatura já discute no tocante à relação do sistema purinérgico com o CM. Nesse viés, salienta-se que pelo presente trabalho tratar-se de um recorte de um projeto maior, não é possível elucidar a via pela qual ocorre a participação desses componentes, porém são dados essenciais na tentativa para delimitar intersecção entre CM e o sistema purinérgico.

Reitera-se que análises dos demais componentes do sistema como receptores, marcadores de expressão gênica, proteica além de relacionar esses achados com o estudo de interleucinas são essenciais para elucidar as vias da ação purinérgica no CM e com isso propor terapêuticas que possibilitem tratamentos mais efetivos para as mulheres acometidas pela doença.

Por fim, salienta-se que para a enfermagem essa pesquisa é de relevância pois enquanto enfermeiros precisamos e devemos nos inserir em diversos locais e uma das possibilidades é a pesquisa nas áreas básicas. Além disso, revisar conceitos básicos promovem uma assistência pautada na ciência e esclarecem a relação clínica patológica que é de grande valia para a prática do profissional enfermeiro.

REFERÊNCIAS

- ANTONIOLI, L. *et al.* The Purinergic System as a Pharmacological Target for the Treatment of Immune-Mediated Inflammatory Diseases. **Pharmacol Rev.** v. 71, n. 3, p. 345-382, jul. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31235653/>. Acesso em: 03 fev. 2023.
- ARAÚJO, J. B. *et al.* Visando a via purinérgica no câncer de mama e suas aplicações terapêuticas. **Sinal Purinérgico.** v. 17, n. 2, p. 179-200, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7879595/>. Acesso em: 03 fev. 2023.
- AVANZATO, D. *et al.* Activation of P2X7 and P2Y11 purinergic receptors inhibits migration and normalizes tumor derived endothelial cells via cAMP signaling. **Scientific Reports.** v. 2, ago. 2016. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/srep32602>. Acesso em: 03 fev. 2023.
- AKRAM, M. *et al.* Awareness and current knowledge of breast cancer. **Biol Res.** ed. 2, v. 50, n.1, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28969709/>. Acesso em: 03 fev. 2023.
- BOISON, D. Adenosine Augmentation Therapy. In: Noebels JL, Avoli M, Rogawski MA, Olsen RW, Delgado-Escueta AV, editors. Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies [Internet]. 4th edition. Bethesda (MD): **National Center for Biotechnology Information.** 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK50785/>. Acesso em: 06 jul. 2022.
- BURNSTOK, G. Purinergic signalling: past, present and future. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research.** v. 42, p. 3-8, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjnbr/a/8QQPCtz6PPndwPrPKKYMwtS/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 15 fev. 2023.
- BRASIL. **Ministério da Saúde.** Instituto Nacional de Câncer. 2022. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-mama>. Acesso em 21 de junho de 2022.
- BRITT, K. L.; CUZICK, J.; PHILLIPS, K. A. Key steps for effective breast cancer prevention. **Nat Rev Cancer.** v. 20, jun. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41568-020-0266-x>. Acesso em: 03 fev. 2023.
- BUISSERET, L. *et al.* Clinical significance of CD73 in triple-negative breast cancer: multiplex analysis of a phase III clinical trial. **Annals of Oncology,** v. 29, n. 4, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29145561/>. Acesso em: 03 fev. 2023.
- DRAGANOV, D. *et al.* Modulation of P2X4/P2X7/ Pannexin-1 sensitivity to extracellular ATP via Ivermectin induces a non-apoptotic and inflammatory form of cancer cell death. **Scientific reports.** v. 5, n. 5, nov. 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4639773/>. Acesso em: 03 fev. 2023.

EUN, S. Y. *et al.* P2Y2 nucleotide receptor-mediated extracellular signal-regulated kinases and protein kinase C activation induces the invasion of highly metastatic breast cancer cells. **Oncology reports**. v. 34, n. 1, p. 195-202, abr. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26063340/>. Acesso em: 03 fev. 2023.

FERRO, F. *et al.* Autophagy and mitophagy in cancer metabolic remodelling. **Seminars in Cell & Developmental Biology**. v. 98, fev. 2020, p. 129-138. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1084952118301691?via%3Dihub#ig0005>. Acesso em: 02 fev. 2023.

FORCADOS, G. E. *et al.* Oxidative Stress and Carcinogenesis: Potential of Phytochemicals in Breast Cancer Therapy. **Nutrition and Cancer**. v. 69, n. 3, p. 365-374, jan. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28103111/> . Acesso em: 03 fev. 2023.

GHELER, Fernanda Valente *et al.* Redução da hidrólise de AMP no plasma sanguíneo de pacientes idosas com câncer de mama após diferentes tratamentos. **Bioquímica Molecular e Celular**. v. 476, jun. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11010-021-04199-x>. Acesso em: 03 fev. 2022.

GLOBOCAN. The Global Cancer Observatory. **Câncer hoje**, 2020. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/20-Breast-fact-sheet.pdf>. Acesso em: 26 jun. 2022.

HE, X. *et al.* Function of the P2X7 receptor in hematopoiesis and leukemogenesis. **Exp Hematol**. v. 104, p. 40-47, dez. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34687808/>. Acesso em 23 ago. 2022.

HECHT, F. *et al.* The role of oxidative stress on breast cancer development and therapy. **Tumor Biol**. v. 37, n. 4, p. 4281-4291, jan. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26815507/> . Acesso em: 03 fev. 2023.

SCULLY, O. J. *et al.* Breast cancer metastasis. **Cancer Genomics Proteomics**. v. 9, n. 5, p. 311-320, set.- out. 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22990110/>. Acesso em: 03 fev. 2022.

SUN, Y. S. *et al.* Risk Factors and Preventions of Breast Cancer. **Int J Biol Sci**. v. 13, n. 11, p. 1387-1397, nov. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29209143/>. Acesso em: 03 fev. 2023.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA . Ministério da Saúde. **Mamografia no SUS**. 2022a. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/controle-do-cancer-de-mama/dados-e-numeros/mamografia-no-sus>. Acesso em: 23 ago. 2022.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Diretrizes para a detecção precoce do câncer de mama no Brasil. Rio de Janeiro:

INCA, 2015. Disponível em:

https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//diretrizes_deteccao_precoce_cancer_mama_brasil.pdf. Acesso em: 01 fev. 2023.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA.

Estimativa 2023: incidência do Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2022b.

Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estimativa>

Acesso em: 01 fev. 2023.

JELASSI, B. *et al.* P2X7 receptor activation enhances SK3 channels- and cystein cathepsin-dependent cancer cells invasiveness. **Oncogene**, v. 30, n. 18, p.

2108–2122, maio 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/onc.2010.593>. Acesso em: 03 fev. 2023.

JIANG, J. X.; RIQUELME, M. A.; ZHOU, J. Z. ATP, a double-edged sword in cancer.

Oncoscience. v. 2, n. 8, p. 673-674 ,ago. 2015. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26425653/>. Acesso em: 03 fev. 2023.

KEEP, O. *et al.* ATP e imunovigilância do câncer. **The EMBO Journal**. ed. 13, v. 40, jul. 2021. Disponível em:

<https://www.embopress.org/doi/full/10.15252/embj.2021108130>. Acesso em: 02 fev. 2023.

LACERDA, A. P.; GONZAGA, H. S.; MACIEL, S. F. V. O. Câncer de mama e sistema purinérgico. In: CARDOSO, A. M.; MANFREDI, L.; MACIEL, S. F. V. O (org.).

Sinalização Purinérgica: Implicações fisiopatológicas. Chapecó: UFFS, 2021. p. 138-155. Disponível em:

<https://www.uffs.edu.br/institucional/reitoria/editora-uffs/repositorio-de-e-books/sinalizacao-purinergica-implicacoes-fisiopatologicas-pdf>. Acesso em: 27 jan. 2023.

LEAL, D.B. *et al.* HIV infection is associated with increased NTPDase activity that correlates with CD39-positive lymphocytes. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.1746, n.2, p.129-134, 2005. Disponível em:

<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/6174/000526313.pdf?sequence=1>. Acesso em: 03 fev. 2023.

LI, X. Y. *et al.* Targeting CD39 in Cancer Reveals an Extracellular ATP- and

Inflammasome-Driven Tumor Immunity. **Cancer Discov**. v. 9, n.12, p. 1754-1773,

dec. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6891207/>.

Acesso em: 02 fev. 2023.

LIU, L. *et al.* Correlation between family history and characteristics of breast cancer.

Sci Rep. v. 11, n. 01, mar. 2021. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33737705/>. Acesso em: 02 fev. 2023.

ŁUKASIEWICZ, S. *et al.* Breast Cancer Epidemiology, Risk Factors, Classification, Prognostic Markers, and Current Treatment Strategies An Updated Review. **Review cancers**, v.13, n. 17, jul. - ago. 2021. Disponível em:

<https://doi.org/10.3390/cancers13174287> . Acesso em: 03 fev. 2023.

OLIVEIRA, T. M. V.; Amostragem não Probabilística: Adequação de Situações para uso e Limitações de amostras por Conveniência, Julgamento e Quotas. **Rev. Administração on-line**. v.2, n.3, 2001. Disponível em: https://pesquisa-eaesp.fgv.br/sites/gvpesquisa.fgv.br/files/arquivos/veludo_-_amostragem_nao_probabilistica_adequacao_de_situacoes_para_uso_e_limitacoes_de_amostras_por_conveniencia.pdf. Acesso em: 12 jul. 2022.

ONCOGUIA. Instituto Oncoguia. **Estadiamento do Câncer de Mama**. 2020. Disponível em: <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/estadiamento-do-cancer-de-mama/1394/264/>. Acesso em: 23 ago. 2022.

TSANG, J. Y. S. *et al.* Molecular Classification of Breast Cancer. **Review article**. v. 27, n. 1, p. 27-35, jan. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31045583/>. Acesso em: 03 fev. 2023.

ZHOU, J. Z. *et al.* Differential impact of adenosine nucleotides released by osteocytes on breast cancer growth and bone metastasis. **Oncogene**. ed. 2, v. 34, n. 14, p. 1831–1842, abr. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24837364/>. Acesso em: 03 fev. 2023.

ZHULAI, G. *et al.* Adenosine-Metabolizing Enzymes, Adenosine Kinase and Adenosine Deaminase, in Cancer. **Biomolecules**. v. 12, n. 3, mar. 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2218-273X/12/3/418>. Acesso em: 02 fev. 2023.