



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
MESTRADO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

HELAMÃ MORAES DOS SANTOS

**ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA E PROTEICA DO PD-L1 E DO CD73 COMO
BIOMARCADORES DE PROGNÓSTICO EM PACIENTES COM GLIOBLASTOMA**

CHAPECÓ-SC

2025

HELAMÃ MORAES DOS SANTOS

ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA E PROTEICA DO PD-L1 E DO CD73 COMO BIOMARCADORES DE PROGNÓSTICO EM PACIENTES COM GLIOBLASTOMA

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Biomédicas.

Orientação: Prof^ª Dr^ª Sarah Franco Vieira de Oliveira Maciel

Co-orientação: Prof^ª Dr^ª Débora Tavares de Resende e Silva

CHAPECÓ-SC

2025

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Santos, Helamã Moraes dos

Análise da expressão gênica e proteica do PD-L1 e do CD73 como biomarcadores de prognóstico em pacientes com Glioblastoma / Helamã Moraes dos Santos. -- 2025.

68 f.:il.

Orientadora: Doutora Sarah Franco Vieira de Oliveira Maciel

Co-orientadora: Doutora Débora Tavares de Resende e Silva

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Pós Doutorado em Ciências Biomédicas, Chapecó, SC, 2025.

1. Glioblastoma. 2. Imunoterapia. 3. Sinalização Purinérgica. I. Maciel, Sarah Franco Vieira de Oliveira, orient. II. Silva, Débora Tavares de Resende e, co-orient. III. Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

HELAMÃ MORAES DOS SANTOS

ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA E PROTEICA DO PD-L1 E DO CD73 COMO BIOMARCADORES DE PROGNÓSTICO EM PACIENTES COM GLIOBLASTOMA

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Biomédicas.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 27/08/2025

BANCA EXAMINADORA

Sarah F. V. O. Maciel

Profª Drª Sarah Franco Vieira de Oliveira Maciel
Universidade Federal da Fronteira Sul
Orientadora

Documento assinado digitalmente
gov.br GABRIELA GONCALVES DE OLIVEIRA
Data: 21/10/2025 10:27:40-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profª Drª Gabriela Gonçalves de Oliveira
Universidade Federal da Fronteira Sul
Avaliadora

Maria Luiza Thorstenberg

Profª Drª Maria Luiza Thorstenberg Cechin
Università Degli Studi di Ferrara
Avaliadora

AGRADECIMENTOS

Ao meu Pai Celestial, que se fez presente em cada detalhe deste trabalho.

À minha esposa, Raquel, que, com amor incondicional, decidiu partilhar comigo todas as frustrações e alegrias que se apresentaram nesse trajeto;

Aos meus pais, Marcos e Jô, que me ensinaram que a educação é sempre nossa maior esperança;

Aos grandes amigos que se tornaram família nesta caminhada;

Aos mestres que tive, em especial às minhas orientadoras, por me ajudarem a enxergar melhor e mais longe;

Aos pós-doutorandos Matheus e Francini, que foram uma grande fonte de inspiração e enriqueceram este trabalho de forma inestimável;

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas e ao Grupo de Estudos de Tumores do Sistema Nervoso Central, pelo apoio no desenvolvimento deste estudo.

Ao apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC) - Termo de Outorga 2023TR000960

"a vida do câncer é um resumo da vida do corpo, sua existência é um espelho patológico da nossa. Mesmo em seu núcleo molecular inato, as células cancerosas são cópias de nós mesmos — dotadas de capacidade de sobrevivência, hiperativas, fragmentárias, fecundas e inventivas"

RESUMO

O Glioblastoma (GBM) é o tumor maligno primário mais prevalente do tecido nervoso, apresenta uma evolução clínica crítica e prognóstico desfavorável. Seu comportamento biológico está associado à indução de um estado imunossupressor através da modulação de componentes do microambiente tumoral. A imunossupressão permite com que esses tumores escapem da vigilância imunológica, além de tornarem-se resistentes às imunoterapias. A via da Morte Celular Programada, representada pelos ligantes PD-1 e PD-L1, bem como o eixo adenosinérgico, mediado pela atividade da enzima CD73, desempenham um papel importante na natureza imunomoduladora dos GBM. Neste estudo, avaliamos a expressão gênica e proteica do CD73 e do PD-L1, bem como seu potencial preditor de prognóstico em amostras tumorais de pacientes com GBM. Trata-se de um estudo transversal não-intervencional. O grupo de estudo foi composto de 42 participantes diagnosticados com Gliomas graus II, III e IV com elegibilidade cirúrgica que foram separados em 2 grupos: Gliomas de Baixo Grau (GBG) (n=21) e GBM (n=21). As amostras foram submetidas à análise de imunohistoquímica, RT-qPCR e dados complementares foram obtidos de bancos de dados públicos de entidades de saúde internacionais. A análise de imunohistoquímica identificou maior expressão proteica por imunorreatividade de PD-L1 e CD73 no grupo de GBM em comparação com o grupo de GBG (p=0,014 e p=0,021, respectivamente). A análise de expressão gênica não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos tanto para o PD-L1 (p=0,616) quanto para o CD73 (p=0,070). Contudo, uma correlação positiva forte e estatisticamente significativa foi observada entre PD-L1 e CD73 em GBM (r=0,714; p=0,003), enquanto em GBG a correlação não foi significativa (p=0,255). Esses achados sugerem que, no GBM, as vias imunossupressoras mediadas por PD-L1 e CD73 podem atuar de forma interdependente, indicando um microambiente tumoral mais imunossupressor. A avaliação da sobrevida geral não apresentou diferença estatística significativa para o PD-L1 (p=0,214) e para o CD73 (p=0,370). Encontramos uma associação significativa entre uma maior expressão gênica do PD-L1 e menores índices de sobrevida livre de progressão (p=0,002). Nossos achados indicam que a expressão gênica e proteica desses marcadores de imunossupressão estão presentes no tecido tumoral de GBM em humanos e podem impactar diretamente no desfecho clínico dessa população.

Palavras-chave: Glioblastoma. GBM. Imunoterapia. PD-L1. Sinalização Purinérgica. CD73.

ABSTRACT

Glioblastoma (GBM) is the most prevalent primary malignant tumor of the nervous tissue, presenting a critical clinical course and an unfavorable prognosis. Its biological behavior is associated with the induction of an immunosuppressive state through the modulation of components of the tumor microenvironment. Immunosuppression enables these tumors to evade immune surveillance and become resistant to immunotherapies. The Programmed Cell Death pathway, represented by the PD-1 and PD-L1 ligands, as well as the adenosinergic axis, mediated by the activity of the CD73 enzyme, play important roles in the immunomodulatory nature of GBM. In this study, we evaluated the protein production and gene expression of CD73 and PD-L1, as well as their prognostic predictive potential in tumor samples from patients with GBM. This is a non-interventional cross-sectional study. The study group consisted of 42 participants diagnosed with grade II, III, and IV gliomas who were eligible for surgery. They were divided into two groups: Low-Grade Gliomas (LGG) (n=21) and GBM (n=21). The samples were subjected to immunohistochemistry and RT-qPCR analyses, and complementary data were obtained from public databases of international health agencies. Immunohistochemistry analysis identified higher protein production through PD-L1 and CD73 immunoreactivity in the GBM group compared to the LGG group (p=0.014 and p=0.021, respectively). Gene expression analysis showed no statistically significant differences between the groups for either PD-L1 (p=0.616) or CD73 (p=0.070). However, a strong and statistically significant positive correlation was observed between PD-L1 and CD73 in GBM (r=0.714; p=0.003), while in LGG the correlation was not significant (p=0.255). These findings suggest that in GBM, the immunosuppressive pathways mediated by PD-L1 and CD73 may act interdependently, indicating a more immunosuppressive tumor microenvironment. Overall survival analysis showed no statistically significant difference for PD-L1 (p=0.214) or CD73 (p=0.370). However, a significant association was found between higher PD-L1 gene expression and lower progression-free survival rates (p=0.002). Our findings indicate that the protein production and gene expression of these immunosuppressive markers are present in human GBM tumor tissue and may directly impact clinical outcomes in this population.

Keywords: Glioblastoma. GBM. Immunotherapy. PD-L1. Purinergic signaling. CD73.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01	Interação PD-1/PD-L1, supressão da atividade tumoral e o papel do ICI	17
Figura 02	Representação esquemática da Sinalização Purinérgica	19
Figura 03	Representação do eixo adenosinérgico no contexto tumoral	20
Figura 04	Apresentação histológica de lâminas de pacientes com GBG e GBM	33
Figura 05	Imunorreatividade para o PD-L1 nos grupos de GBG e GBM	34
Figura 06	Imunorreatividade para o CD73 nos grupos de GBG e GBM	34
Figura 07	Análise comparativa da expressão proteica em amostras de GBG e GBM	35
Figura 08	Análise comparativa da expressão gênica em amostras de GBG e GBM	36
Figura 09	Correlação entre a expressão de CD73 e PD-L1 em amostras de GBG e GBM	37
Figura 10	Expressão de <i>CD274/NT5E</i> e prognóstico de pacientes com GBM	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Características gerais da amostra de pacientes dos grupos de GBG e GBM	31
Tabela 02	Localização topográfica dos tumores e grau de ressecção	32
Tabela 03	Características clínico-patológicas da população de estudo	33

LISTA DE QUADROS

Quadro 01 Sequência dos primers *forward* e *reverse* para os genes alvos e de referência 29

LISTA DE SIGLAS E ABREVIÇÕES

A2A	Receptor de Adenosina Tipo 2A
ADO	Adenosina
CD73	Ecto-5'-nucleotidase
EMT	Epithelial-Mesenchymal Transition (Transição Epitelial-Mesenquimal)
GBG	Gliomas de Baixo Grau
GBM	Glioblastoma
GSC	Glioma Stem-like Cells (Células-tronco Semelhantes a Gliomas)
HIF-1	Hypoxia-Inducible Factor 1 (Fator Induzível por Hipóxia 1)
hFSRT	Hipofracionamento Estereotáxico da Radioterapia
ICI	Inibidores de Checkpoint Imunológico
IL-1	Interleucina 1
IL-10	Interleucina 10
MAT	Microambiente Tumoral
MDSCs	Myeloid-Derived Suppressor Cells (Células Supressoras Mieloides Derivadas)
MEK/ERK	Mitogen-Activated Protein Kinase/Extracellular Signal-Regulated Kinase
MGMT	O6-Metilguanina-DNA-Metiltransferase
MMR	Mismatch Repair (Reparo de Mismatch)
MMP	Metaloproteinases
MSI	Microsatellite Instability (Instabilidade de Microssatélites)
NSCLC	Non-Small Cell Lung Cancer (Câncer de Pulmão de Não Pequenas Células)
PD-1	Programmed Cell Death Protein 1
PD-L1	Programmed Death-Ligand 1
PFI	Progression-Free Interval (Intervalo Livre de Progressão)
QT	Quimioterapia

RT	Radioterapia
RT-qPCR	Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real Quantitativa
SG	Sobrevida Global
SLP	Sobrevida Livre de Progressão
SNC	Sistema Nervoso Central
TAM	Tumor-Associated Macrophages (Macrófagos Associados a Tumores)
TCGA	The Cancer Genome Atlas
TGF-β	Transforming Growth Factor Beta (Fator de Crescimento Transformador Beta)
TILs	Tumor-Infiltrating Lymphocytes (Linfócitos Infiltrantes de Tumor)
TMZ	Temozolomida
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor (Fator de Crescimento Endotelial Vascular)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 OBJETIVOS.....	11
2.1 OBJETIVO GERAL.....	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	12
3.1 GLIOMAS.....	12
3.2 GLIOBLASTOMA.....	13
3.3 MANEJO TERAPÊUTICO ATUAL E PROGNÓSTICO PARA O GBM.....	14
3.4 A VIA DA MORTE CELULAR PROGRAMADA E OS INIBIDORES DE CHECKPOINT IMUNOLÓGICO.....	15
3.5 O CD73 E A CASCATA PURINÉRGICA.....	17
3.4 A IMUNOTERAPIA E OUTRAS TERAPIAS-ALVO PARA O GBM.....	21
3.6 A IMUNOSSUPRESSÃO E A RESISTÊNCIA TERAPÊUTICA.....	23
4 METODOLOGIA.....	25
4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	25
4.2 COLETA E ARMAZENAMENTO DO TECIDO TUMORAL.....	25
4.3 ANÁLISE DA EXPRESSÃO PROTEICA POR IMUNOHISTOQUÍMICA.....	26
4.4 ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA POR RT-qPCR.....	27
4.5 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DO PD-L1 (<i>CD274</i>) E CD73 (<i>NT5E</i>) EM BIÓPSIAS DE GBM EM DADOS DE BANCOS PÚBLICOS.....	28
4.6 ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS.....	29
5 RESULTADOS.....	30
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA.....	30
5.2 EXPRESSÃO PROTEICA DE PD-L1 E CD73.....	32
5.3 EXPRESSÃO GÊNICA DE PD-L1 (<i>CD274</i>) E CD73 (<i>NT5E</i>) EM GBG E GBM....	35
5.4 CORRELAÇÃO ENTRE A EXPRESSÃO GÊNICA RELATIVA DE PD-L1 (<i>CD274</i>)	

E CD73 (<i>NT5E</i>).....	36
5.5 EXPRESSÃO DO PD-L1 (<i>CD274</i>) E CD73 (<i>NT5E</i>) EM BIÓPSIAS DE GBM EM DADOS DE BANCOS PÚBLICOS.....	37
6 DISCUSSÃO.....	39
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	42
REFERÊNCIAS.....	43
ANEXO I.....	52
ANEXO II.....	58

INTRODUÇÃO

O glioblastoma (GBM) é o tumor maligno de maior incidência no Sistema Nervoso Central (SNC) representando 14% de todos os tumores deste sítio, com taxas de incidência de 3,27 a cada 100.000 habitantes nos Estados Unidos (Price *et al.*, 2024). É mais prevalente em homens, de idades mais avançadas, e pode evoluir com elevada agressividade e infiltrabilidade no parênquima cerebral, com alto risco de recidivas e baixas taxas de sobrevida, correspondentes a menos de 5 anos (Girardi *et al.*, 2023).

A natureza destes tumores é variável devido às suas características intrínsecas, apresentando diferentes comportamentos biológicos e desfechos clínicos. Com destaque, seu potencial altamente invasivo com proliferação disseminada permite uma recorrência após a remoção cirúrgica do tumor (Seker-Polat *et al.*, 2022). Possui uma resistência às terapias convencionais associada à modulação do microambiente tumoral (MAT), que representa uma importante barreira no tratamento deste tipo de tumor (Dymova *et al.*, 2021).

A criação de um MAT com um estado imunossupressor é uma marca registrada do câncer (Hanahan, 2022). Atualmente, sabe-se que o GBM induz à esta imunossupressão resultando na exaustão dos linfócitos infiltrantes do tumor (LIT), hipóxia local e inativação das populações de células de resposta inata e adaptativa, favorecendo sua progressão e posterior disseminação (Kalluri, Shah, Lim; 2023).

A via da Morte Celular Programada (Lu, Du, Kong; 2020) e a via adenosinérgica (Kang *et al.*, 2023) são mecanismos utilizados na evasão imune em diversos tumores, inclusive no GBM. Nesse sentido, as moléculas que compõem estas sinalizações possuem o potencial de tornarem-se biomarcadores de prognóstico, podendo prever, com elevado grau de confiabilidade, complicações e desfechos clínicos que podem orientar um manejo terapêutico mais individualizado e preciso para cada paciente (Vranic, Gatalica, 2023).

O GBM e suas respectivas características estão sendo amplamente discutidas dada a complexidade do tecido em que estão inseridos e seu impacto na qualidade de vida dos indivíduos afetados. Este trabalho atua na vertente de investigar seus mecanismos fisiopatológicos e seu cenário imunológico, contribuindo para o desenvolvimento de ferramentas de diagnóstico e terapêutica cada vez mais específicas e assertivas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a expressão gênica e proteica do CD73 e do PD-L1; e seu potencial preditor de prognóstico em amostras tumorais de pacientes com GBM.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Correlacionar a expressão do CD73 e do PD-L1 no MAT com os parâmetros clínico-patológicos;
- b) Avaliar a imunohistoquímica como técnica de mensuração da expressão proteica de CD73 e do PD-L1 como biomarcadores prognósticos no GBM;
- c) Comparar os níveis de expressão gênica do CD73 e do PD-L1 no GBM e sua correlação com os respectivos desfechos clínicos.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 GLIOMAS

Os gliomas são os tipos mais comuns de neoplasias que acometem o SNC. Trata-se de um conjunto heterogêneo de doenças, representando mais de um quarto dos tumores primários deste sítio, com cerca de 80% dos casos de malignidade (Ostrom *et al.*, 2020). Possui um amplo espectro de incidência, acometendo tanto a população idosa e adulta, assim como a faixa etária infantil, sendo responsáveis por cerca de 50% de todos os tumores pediátricos malignos do SNC (Pellerino *et al.*, 2022).

Grande parte dos gliomas não estão associados a um histórico familiar, sendo que menos de 30% dos tumores do SNC são atribuídos a síndromes familiares como a síndrome de Li-Fraumeni e a Neurofibromatose do tipo 1 (NF1) (Francis *et al.*, 2022). Apesar disto, a incidência de neoplasias malignas do SNC, sobretudo do GBM, é mais alta em países europeus ou de ascendência predominantemente europeia, o que representa um importante fator demográfico a ser investigado (Ostrom *et al.*, 2019).

O fator de risco ambiental mais bem consolidado para a incidência de gliomas é a exposição a doses altas de radiação ionizante (Lopes *et al.*, 2022). Além disso, características antropométricas, como a elevação do índice de massa corporal (IMC), foram correlacionadas positivamente com um risco aumentado de gliomas (Ahn *et al.*, 2025). Outros fatores como hipertensão, uso de ópio e tabagismo, também foram identificados como prevalentes em pacientes com tumores do SNC, sugerindo uma correlação entre esses elementos e a incidência e prognóstico da doença (Rezanejad-Asl *et al.*, 2025).

Por outro lado, tem-se encontrado que um histórico de atopia na infância representa uma fator protetivo para a incidência de gliomas na fase adulta, inclusive de variantes mais agressivas como o GBM, estimando um risco 40% menor para estes indivíduos (Pan *et al.*, 2025). Em um estudo translacional com camundongos, foi encontrado que modelos com indução de asma alérgica na infância resultaram em reprogramação pró-inflamatória da micróglia, aumento da infiltração de linfócitos TCD4+ promovendo um estado favorável de vigilância, com menor implantação tumoral e retardo no crescimento do glioma (Poli *et al.*, 2023)

A evolução da doença tende a ter um prognóstico ruim com o decorrer da idade. O diagnóstico em indivíduos maiores de 40 anos, geralmente, sugerem uma abordagem terapêutica mais incisiva (Tesileanu *et al.*, 2020). Em idosos, há uma prevalência maior de

variantes mais agressivas dificultando o manejo desta população. O plano de tratamento deve sempre considerar a manutenção do status funcional, as interações medicamentosas e as comorbidades associadas à idade (Mazarakis *et al.*, 2024).

Sua classificação tem sido constantemente atualizada pelas entidades responsáveis, sendo publicada a última versão em 2021. Podem ser definidos 15 tipos de gliomas difusos adultos com base no diagnóstico molecular e histológico das lesões (Louis *et al.*, 2021). Porém, de modo geral, podem ser classificados segundo sua história natural, sendo agrupados em dois grandes grupos: (1) Gliomas de Baixo Grau (GBG), que incluem os graus I - que acomete, principalmente, a população pediátrica -, II e III da Organização Mundial de Saúde (OMS); e os (2) Glioblastomas (GBM), que representam o grau IV (Tran, Bielle, 2022).

3.2 GLIOBLASTOMA

O GBM, também definido como Glioma de grau 4, é uma doença agressiva com uma evolução crítica e desfechos negativos. Um estudo encontrou que a sobrevida geral (SG) para o GBM varia de 53,7% no primeiro ano para cerca de 30% em 2 anos (Ostrom *et al.*, 2023). Desenvolvem-se silenciosamente no decorrer dos anos, podendo apresentar sintomas inespecíficos como cefaléia, disfunções cognitivas e comportamentais, convulsões focais, aumento da pressão intracraniana, entre outros (McKinnon *et al.*, 2021).

A ressonância nuclear magnética (RNM) desempenha um papel fundamental no diagnóstico e acompanhamento do GBM. Nesse sentido, permitem a observação de massas irregulares com áreas de necrose central distinta associadas a uma região de edema significativo circundante ao tumor, assim como, podem também apresentar um comportamento infiltrativo no parênquima cerebral adjacente (Hooper, Ginat; 2023).

Com as mudanças definidas pela Classificação da OMS em 2021, o GBM também é diagnosticado considerando características histopatológicas e alterações moleculares, dentre as quais se destacam: gene da enzima isocitrato desidrogenase (*IDH*) selvagem, mutação do promotor da transcriptase reversa da telomerase (*TERT*), amplificação do gene de fator de crescimento endotelial epidermal (*EGFR*) ou ganho combinado de todo o cromossomo 7 e perda de todo o cromossomo 10 [+7/-10] (Wen, Packer; 2021).

Com destaque ao EGFR, a ativação anômala desta via pelas células tumorais promove a modulação da população de macrófagos associadas ao tumor (TAM), favorecendo sua polarização à um fenótipo imunossupressor - o subtipo M2. Além disso, tem-se evidenciado que o papel desta via de sinalização na regulação da secreção de citocinas anti-inflamatórias,

como a IL-10 e TGF- β , intensificam a imunossupressão local e promovem a progressão tumoral (Li *et al.*, 2023).

Outras condições moleculares que também são comumente observadas no GBM é a deleção homozigota dos genes das ciclinas dependente de quinases 2 A e B (*CDKN2A/B*), a metilação dos gene O6-metilguanina-DNA metiltransferase (*MGMT*) e a co-deleção dos braços cromossômicos 1p e 19q. Ambos estão fortemente associados às apresentações mais agressivas do tumor, resistentes à terapia convencional e, conseqüentemente, piores desfechos clínicos (Ostrom *et al.*, 2023; Lee *et al.*, 2024).

Dessa maneira, o MAT do GBM é um ecossistema complexo e diverso, caracterizado pela pluralidade celular, interações imuno-regulatórias, ação metabólica, e modulação epigenética resultando num curso altamente variável e imprevisível (Vijayanathan, Ho; 2025). De igual modo, representa um ambiente rico de alvos que podem ser considerados em estratégias terapêuticas combinadas, podendo neutralizar a progressão tumoral e melhorar os desfechos clínicos (Jackson *et al.*, 2025).

O GBM tem uma menor atividade inflamatória e um fenótipo imunossupressor, classificando-o como um “tumor frio”, essa regulação negativa é influenciada pela interação das células cancerosas e o estroma circundante, resultando em menor infiltração linfocitária e, desse modo, menor resposta à imunoterapia (Di Nunno *et al.*, 2023). Nesse sentido, tem-se desenvolvido intervenções terapêuticas que visam converter essa estado “frio” para “quente”, favorecendo a resposta antitumoral do indivíduo (Tomaszewski *et al.*, 2019).

3.3 MANEJO TERAPÊUTICO ATUAL E PROGNÓSTICO PARA O GBM

O manejo terapêutico do GBM é complexo e, atualmente, está indicada a ressecção máxima segura do tumor seguida de quimioterapia (QT) e radioterapia (RT) (Tan *et al.*, 2020). A temozolomida (TMZ) concomitante à RT tem sido o tratamento adjuvante padrão ouro do GBM desde 2005, com estudo de fase III que apresentou uma taxa de sobrevida mediana de 14,6 meses e taxa de morbidade de 37% no grupo de pacientes que receberam o tratamento (Stupp *et al.*, 2005).

A TMZ é um pró-fármaco alquilante que, quando convertida em seu metabólito ativo - o cátion metildiazônio, exerce seu efeito citotóxico primário pela metilação preferencial de porções do DNA, desencadeando ciclos deficientes de reparos de incompatibilidade e induzindo à apoptose. É o quimioterápico de escolha para o tratamento do GBM, principalmente por sua capacidade de penetração na barreira hematoencefálica (BHE) e

biodisponibilidade oral (Li *et al.*, 2025). Assim como, a TMZ é considerada um radiosensibilizador, potencializando o efeito da RT ao aumentar o número de quebras de fita-dupla do DNA induzidos pela radiação, e a administração concomitante destes agentes melhora a permeabilidade da TMZ através da BHE (Kaina *et al.*, 2022).

Apesar disto, mesmo com a implementação do Protocolo Stupp, a sobrevida mediana permanece em torno de 12 a 15 meses após o diagnóstico, com menos de 5% de sobrevida em cinco anos. Além da ressecção incompleta do tumor, a resistência à TMZ é um dos principais obstáculos para a melhoria da sobrevida. Ocorre em aproximadamente 50% dos pacientes, sendo primariamente associada à expressão da enzima MGMT (Pu *et al.*, 2025).

Os mecanismos de resistência ao tratamento-padrão focam no reparo efetivo do DNA promovido pelas células do GBM, especialmente através da ação da enzima MGMT, que repara o dano alquilante causado pela TMZ (Yalamarty *et al.*, 2023). Um ensaio clínico de fase III encontrou que pacientes com GBM com metilação na região promotora da MGMT tiveram melhores taxas de sobrevivência quando comparados a tumores não metilados, o que pode indicar um perfil de elegibilidade de pacientes que podem se beneficiar da imunoterapia (Reardon *et al.*, 2020).

Avanços diagnósticos, como imagens multimodais e perfil molecular, têm aprimorado a detecção precoce e a seleção de terapias de precisão. Bem como, novas abordagens mais específicas, incluindo a imunoterapia, nanotecnologia para entrega de medicamentos e terapias direcionadas, emergem como promissoras alternativas para a mudança desse cenário desfavorável (Rizwani *et al.*, 2025).

3.4 A VIA DA MORTE CELULAR PROGRAMADA E OS INIBIDORES DE CHECKPOINT IMUNOLÓGICO

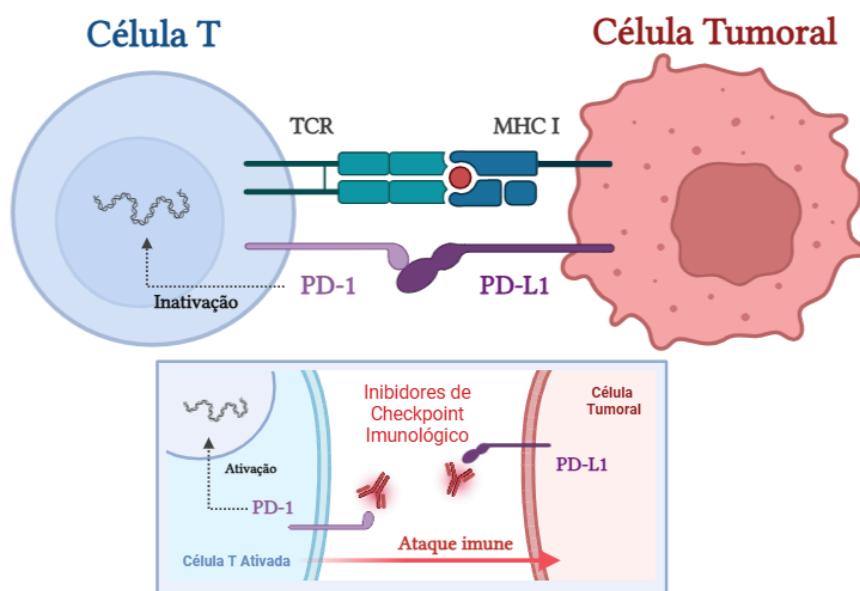
A via da Morte Celular Programada, representada principalmente pelos receptores de membrana *Programmed-Cell Death 1* (PD-1) e *Programmed-Cell Death Ligand* (PD-L1) tem recebido atenção significativa no contexto do câncer (Tang *et al.*, 2022). Esses receptores são expressos em vários tecidos e, em condições homeostáticas, atuam na prevenção de distúrbios autoimunes e permitindo a autotolerância imunológica (He, Xu; 2020).

No GBM, células tumorais reguladas pelo interferon-gama (IFN- γ) expressam o receptor PD-L1 (B7-H1; CD274), que interage com o PD-1 (CD279), presente nas células do sistema imune, principalmente células T e B ativadas, emitindo um sinal co-inibitório, reproduzindo múltiplos efeitos como a inibição da proliferação e ativação de clones de

células TCD8+ (conforme demonstrado na Figura 01), diminuição da população de células *Natural-Killers* (NK) e estimulação de células T regulatórias (Treg) (Mahmoud *et al.*, 2022).

Os Inibidores de Checkpoint Imunológico (ICI) são anticorpos monoclonais que atuam bloqueando essa interação, impedindo a inativação dos linfócitos T e permitindo que realizem sua atividade antitumoral (Kumar *et al.*, 2023). Apesar dos avanços na aplicação clínica da imunoterapia em vários tipos de tumores, ainda não há taxas de resposta satisfatórias em todos eles, e em alguns pacientes foi observada resistência terapêutica após respostas iniciais (Politis *et al.*, 2025).

Figura 01 - Interação PD-1/PD-L1, supressão da atividade tumoral e o papel do ICI



Legenda: Mecanismo de evasão tumoral via PD-1/PD-L1 e ação dos ICI, que restauram a resposta das células T contra o tumor. TCR = Receptor de Células T; MHC I = Complexo Principal de Histocompatibilidade tipo 1.

Fonte: Elaborado pelo autor (2025)

A ampla heterogeneidade celular imune no MAT pode contribuir para o estado geral de imunossupressão. Dentro desse ecossistema complexo, os TAMs desempenham diversas funções centrais, como a secreção de fatores anti-inflamatórios, como a interleucina 10 (IL-10) e o fator de crescimento tumoral beta (TGF- β), promovendo o aumento da atividade do eixo PD-1/PD-L1, fortalecendo um ciclo de tolerância imunológica que favorece a resistência terapêutica e o crescimento tumoral (Wang *et al.*, 2024).

A presença discreta de células CD8+ é uma característica do GBM, com aumento significativo após exposição à QT e RT. A concentração de linfócitos infiltrantes de tumor

(TILs) está diretamente correlacionada com a expressão de PD-L1 pelas células tumorais, em que foi encontrada uma associação entre esses marcadores e um pior prognóstico em um grupo de pacientes (Shadbad *et al.*, 2021). Em tumores recorrentes após tratamento, foi encontrada uma expressão aumentada dos marcadores CD8+, CD68+, CD3+ e PD-L1 em uma comparação pareada com os tumores primários (Loussouarn *et al.*, 2023).

Ao contrário de outros tipos de tumores, o GBM tem uma baixa carga mutacional e, portanto, há menos produção de neoantígenos, induzindo uma menor migração de TILs, contribuindo para o “MAT frio”. Este é um dos principais fatores que influenciam a baixa resposta imunoterapêutica (Miller *et al.*, 2023). A QT e a RT tem o potencial de induzir um fenótipo hipermutante no GBM, gerando assim um espectro expandido de neoantígenos, o que justifica o enriquecimento de TILs em tumores refratários (Touat *et al.*, 2020). Em pacientes com GBM recorrente, apenas alguns pacientes demonstram um bom resultado clínico com o uso de ICI (Filley, Henriquez, Dey; 2017).

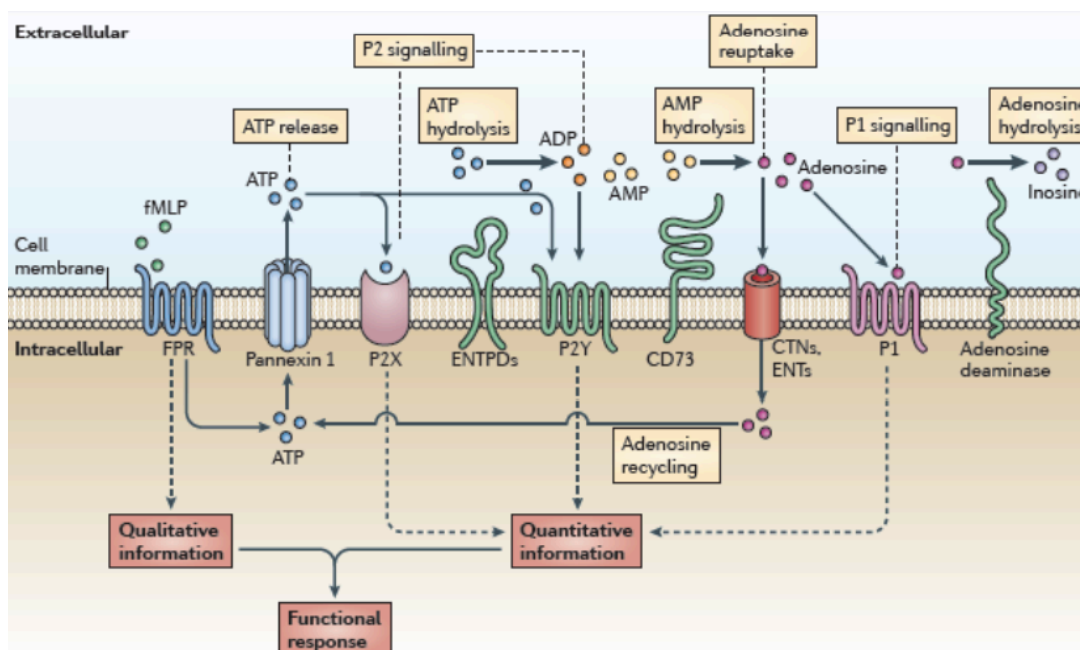
Um estudo anterior de Hutarew e outros (2022) investigou a regulação genética no GBM por meio de análises moleculares de 20 amostras de tumores fixadas em formalina e emblocadas em parafina (FFPE), e descobriu que as amostras que apresentaram hipometilação e conseqüente maior ativação genética estavam diretamente associados a altas taxas de expressão de PD-L1, o que indica a importância de uma maior elucidação dos mecanismos moleculares e epigenéticos subjacentes à via PD-1/PD-L1 nesses tumores.

3.5 O CD73 E A CASCATA PURINÉRGICA

A sinalização purinérgica é um sistema de comunicação extracelular mediada por purinas, enzimas transmembranares e receptores. É impulsionada pela atividade das ectoenzimas ectonucleosídeo difosfohidrolases trifosfato (CD39), que atua para converter adenosina trifosfato (ATP) em adenosina difosfato (ADP) e adenosina monofosfato (AMP); e da ecto-5'-nucleotidase (CD73), que converte AMP extracelular em adenosina (ADO), conforme visualizado na Figura 02 (Zimmerman, 2021).

No contexto oncológico, as moléculas de ATP e ADO são secretadas ativamente pelas células no espaço extracelular, modulando a composição bioquímica do MAT como uma alternativa para promover seu crescimento e progressão (Di Virgilio *et al.*, 2018). Exercem suas atividades ao ligarem-se aos seus respectivos receptores: a família P1 (A1, A2A, A2B, A3) e a família P2 (P2X e P2Y) (Cardoso *et al.*, 2021).

Figura 02 - Representação esquemática da Sinalização Purinérgica



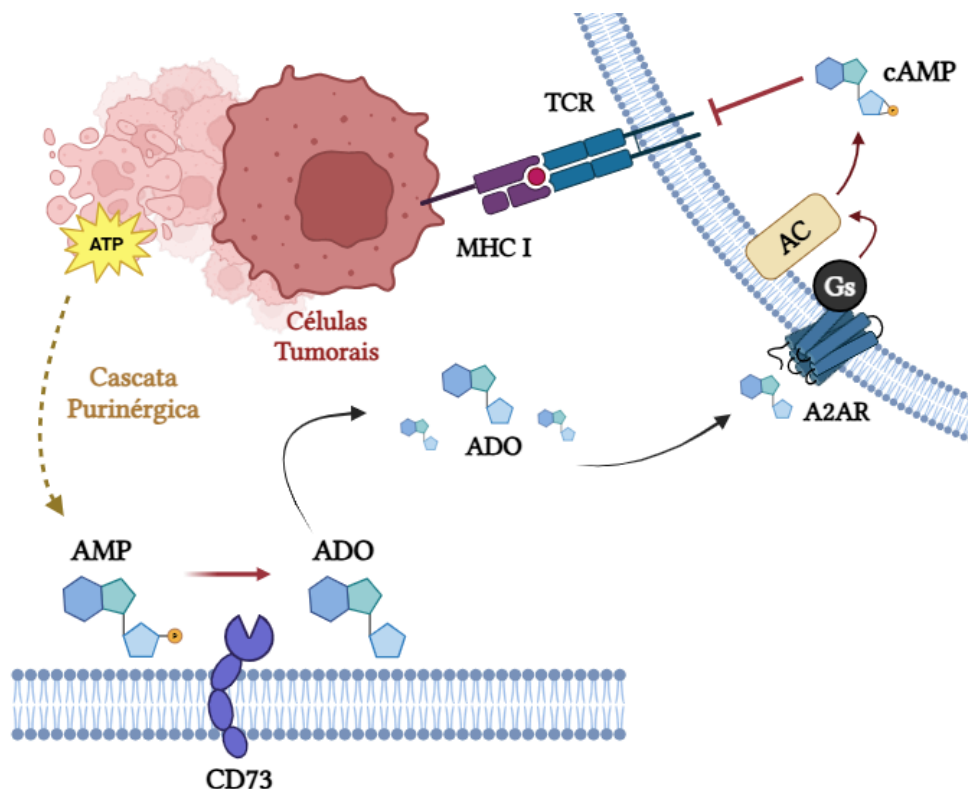
Fonte: Junger (2011)

Com destaque para o GBM, a CD73 é uma enzima transmembrana que participa da cascata de hidrólise do ATP em ADO. Esse nucleosídeo, no meio extracelular, desempenha um papel de imunorregulação negativa dos linfócitos e demais células imunes por meio de sua ligação com os receptores da família P1, principalmente o A2A. Nesse sentido, o aumento da expressão desses receptores pode representar uma pior evolução do quadro clínico devido à imunossupressão induzida pela ADO (Debom, Rubenich, Braganhol *et al.*, 2022).

O receptor A2A (A2AR) está presente nas principais células de citotoxicidade (NK e linfócitos TCD8+) que estão dispersas no MAT e sua ligação com a ADO extracelular é uma parte importante do eixo adenosinérgico causando uma inibição do TCR e uma inativação imunológica, conforme mostrado na Figura 03 (Kang *et al.*, 2023). Estudos anteriores mostraram que os receptores A1, A2A e A3 estão superexpressos em gliomas (Huang *et al.*, 2016; Maziotta *et al.*, 2022).

A expressão gênica do A2AR, quando elevada, tem associação com a agressividade do glioma, sobretudo em homens, e apresenta pior evolução clínica. De fato, tem-se encontrado uma relação intrínseca entre a superexpressão do A2A e o aumento da expressão de genes de exaustão de linfócitos, adesão focal, interações da matriz extracelular e promoção da angiogênese (Rafi *et al.*, 2023).

Figura 03 - Representação do eixo adenosinérgico no contexto tumoral



Legenda: O CD73 hidrolisa o AMP em ADO. A alta afinidade do ADO pelo A2AR permite que sua ligação ocorra mesmo em baixas concentrações do ligante. O A2AR é um receptor acoplado à proteína Gs que ativa a adenilato ciclase (AC). Uma cascata de fosforilação é iniciada e o AMP cíclico (cAMP) exerce sua atividade inibindo o desencadeamento da resposta imune potencial do TCR.

Fonte: Elaborado pelo autor (2025)

Uma coorte realizada por Ott e outros observou a regulação positiva do A2AR e a presença de CD73 em populações TIL em todos os indivíduos com Gliomas, independentemente da apresentação clínica, inferindo que a via ADO é o mecanismo imunossupressor mais frequente em pacientes com diferentes subtipos de Gliomas, principalmente GBM (Ott *et al.*, 2020).

A ADO tem o potencial de promover a expansão e o recrutamento de células supressoras monocíticas derivadas de mieloides (MDSCs), que contribuem para a inativação de populações de células T e um ambiente imunossupressor (Liu *et al.*, 2022; Pang *et al.*, 2022). A concentração de MDSCs mostrou-se elevada em amostras de sangue periférico de pacientes com resposta leve à ICI (Chung *et al.*, 2020).

O crescimento e a diferenciação de células-tronco semelhantes a gliomas (GSC), bem como a expressão de genes de transição mesenquimal-epitelial (EMT), estão diretamente

associados à expressão de CD73, demonstrando seu potencial para modular a composição estrutural do MAT (Tsiampali *et al.*, 2020).

A CD73 e a ADO demonstraram o potencial de regular a migração, agressividade e invasividade *in vitro* e em camundongos, levando à deformação do parênquima cerebral e à ação de metaloproteinases (MMP) que degradam a matriz extracelular e permitem a disseminação das células tumorais (Azambuja *et al.*, 2019; Yan *et al.*, 2019).

A morte celular causada pela QT e RT pode causar um aumento no ATP extracelular e ADO, com maior atividade de ectoenzimas (Wang *et al.*, 2018). Alguns estudos indicaram que a RT impulsiona um MAT imunologicamente reativo e combinado com o bloqueio de CD73 pode aumentar a resposta inflamatória antitumoral e ajudar a combater cânceres, especialmente aqueles refratários ao tratamento (De Leve, Wirsdörfer, Jendrossek; 2019). Metodologias de tratamento que visam componentes do eixo adenosinérgico demonstraram resultados clínicos e pré-clínicos promissores na restauração da resposta antitumoral, superando a quimiorresistência e aumentando as taxas de sobrevivência (Jin *et al.*, 2021).

Além da imunossupressão, o CD73 desempenha um papel nos processos de neoangiogênese, metástase e resistência a medicamentos (Arab, Hasannejad; 2021). De fato, uma análise *in vitro* demonstrou que há uma forte ligação entre as vias adenosinérgica e de sinalização do EGFR, e que a inibição do EGFR aumenta a expressão de CD73 como resposta compensatória. Assim como, o bloqueio combinado resultou na supressão do crescimento celular (Silva *et al.*, 2025).

A expressão de CD73 nas células tumorais é modulada pela sinalização das moléculas de interferons do tipo I e II (IFN-1; 2), os quais influenciam diretamente na dinâmica da invasão tumoral. Estudos com camundongos evidenciou que a CD73 favorece a invasão do GBM mediados em resposta aos IFNs. Bem como, o seu bloqueio de CD73 pode potencializar as respostas imunes antitumorais, ao mesmo tempo em que inibe a capacidade invasiva do tumor (Kyritsi *et al.*, 2025).

Um ensaio com cultura de células de glioma C6 objetivou avaliar a atividade antitumoral do Resveratrol, um composto polifenólico, por meio da modulação da via adenosinérgica. De fato, o polifenol induziu uma redução significativa da atividade do CD73, entretanto, os mecanismos moleculares que levam à esta modulação ainda não foram bem elucidados (Sánchez-Melgar *et al.*, 2021).

3.4 A IMUNOTERAPIA E OUTRAS TERAPIAS-ALVO PARA O GBM

Como mencionado anteriormente, devido a natureza “fria” e baixa infiltração linfocitária, os ensaios clínicos com pacientes com GBM, sejam eles recém-diagnosticados ou refratários, não alcançam bons resultados como visto em outros tipos de câncer como melanoma e câncer de pulmão não pequenas células (NSCLC) (Ng *et al.*, 2024; Jain, Vashist, Panjiyar; 2023). Apesar dos cenários adversos, diferentes metodologias estão sendo investigadas para melhorar a eficácia dos ICI na terapia anti-GBM para entender os fatores intrínsecos que promovem a falha terapêutica (Salvato, Marchini; 2024).

O Nivolumabe é um agente anti-PD-1 e tem sido o medicamento mais testado para o tratamento do GBM. O estudo Checkmate-143 foi pioneiro em avaliar a eficácia do Nivolumabe, em regime de monoterapia e, não encontrou melhora significativa na SG quando comparados àqueles tratados com outro regime terapêutico (Reardon *et al.*, 2017). No contexto neoadjuvante, não demonstrou nenhum benefício clínico imediato, porém, no acompanhamento longitudinal, apresentou taxas de SLP superiores a 30 meses, especialmente quando associadas à presença de metilação do MGMT (Schalper *et al.*, 2019).

Em regimes combinados, o Nivolumabe foi testado em outros dois estudos de fase III: o CheckMate 498 e o CheckMate 548. No primeiro, pacientes recém-diagnosticados com MGMT não metilado com o uso de Nivolumabe associado à RT não demonstraram nenhuma melhora em comparação ao grupo que realizou o protocolo Stupp. No segundo estudo, por sua vez, foram selecionados pacientes com metilação de MGMT, combinando Nivolumabe com TMZ + RT e, também, não observou-se melhora significativa em comparação ao grupo controle (Omuro *et al.*, 2023; Lim *et al.*, 2022).

O ensaio KEYNOTE-028 utilizou Pembrolizumabe, outro agente anti-PD-1, sozinho em pacientes com GBM recorrente. As taxas de resposta total da população do estudo foram discretas, cerca de 8%, mas apresentaram resultados otimistas com melhora da SG em mais da metade das amostras demonstrando um potencial antitumoral sustentado em longo prazo (Reardon *et al.*, 2021).

Em um grupo de pacientes com GBM recorrente, um ensaio clínico testou Avelumab, um anti-PD-L1, em combinação com Axitinib, um inibidor seletivo para receptores do VEGF. Ele foi interrompido porque não atingiu uma taxa de PFS satisfatória nos primeiros 6 meses da investigação (Neyns *et al.*, 2019).

O Durvalumab, outro agente anti-PD-L1, combinado com RT demonstrou aumento na sobrevida em indivíduos com GBM recém-diagnosticado com MGMT não metilado

(Reardon *et al.*, 2019). Da mesma forma, a associação com a técnica de radioterapia estereotáxica hipofracionada (hFSRT), em pacientes com GBM recorrente, mostrou boa tolerabilidade nos resultados iniciais (Pouessel *et al.*, 2023).

Em relação às terapias que visam bloquear o eixo adenosinérgico, há uma carência de estudos clínicos que comprovem a segurança e eficácia desses anticorpos em GBM e tumores do SNC em geral. O bloqueio concomitante da produção e acúmulo de ADO (CD73) e sua sinalização (A2AR, A2BR, A3R) estão sendo investigados clinicamente, principalmente em tumores sólidos, metastáticos ou irresssecáveis (Willingham *et al.*, 2020).

Em camundongos, foi demonstrado que uma menor atividade induzida de CD73 pode impulsionar a resposta anti-PD-1 além de regular o crescimento tumoral, sugerindo o uso dessa abordagem em estudos clínicos robustos que reforcem a eficácia dessa associação (Azambuja *et al.*, 2019; Goswani *et al.*, 2020). Também pode intensificar a resposta à QT e RT, superando a resistência terapêutica atual (Franco *et al.*, 2021).

Outros conjuntos-alvo de investigação terapêutica para o GBM são os inibidores de receptores de tirosina-quinase (RTKi). Com destaque à via do Fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K)/proteína-quinase B (AKT)/alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR), que desempenha um papel crucial no crescimento e sobrevivência tumoral (Li *et al.*, 2016).

O Dactolisib é um inibidor duplo PI3K/mTOR, quando combinado com RT e QT demonstrou aumento da sobrevivência tanto *in vitro* quanto *in vivo*, entretanto apresentou uma ampla gama de efeitos adversos (Shi *et al.*, 2018). Outro inibidor duplo, o Paxalisibe tem demonstrado resultados iniciais promissores em ensaios clínicos para GBM recém-diagnosticados e recorrentes (Jackson *et al.*, 2023).

O uso de Regorafenibe, um inibidor multiquinases, demonstrou aumento da SG com menor incidência de efeitos colaterais no estudo clínico REGOMA (Lombardi *et al.*, 2019). Em modelos pré-clínicos, demonstrou atuar na inibição concomitante de cinases envolvidas na angiogênese tumoral, bem como nos processos de oncogênese e na regulação do MAT (Ferraro, Zalcberg; 2014). Entretanto, apesar de haver recomendações formais e aprovação do FDA para seu uso, na prática clínica não se reportam custo-benefício desejados quanto à sua aplicação (Kotecha *et al.*, 2023).

Quanto ao uso das células T receptoras de antígeno quimérico (CAR-T), a associação com a RT demonstrou aumentar a permeabilidade da BHE melhorando a infiltração celular (Sabbagh *et al.*, 2021). No entanto, a complexidade imunológica do tecido cerebral em que o tumor se estabelece e sua heterogeneidade antigênica emergem como os principais desafios para o sucesso desse tipo de abordagem (Martinez, Moon; 2019; Luksik *et al.*, 2023). A

terapia CAR-T promove uma liberação intensa de citocinas pró-inflamatórias que causam danos diretos ao SNC levando à um estado de toxicidade aumentada (Tanaka *et al.*, 2016).

3.6 A IMUNOSSUPRESSÃO E A RESISTÊNCIA TERAPÊUTICA

Um dos fatores mais importantes associados à falha terapêutica no GBM é a presença de um microambiente imunossuprimido, que favorece a evasão imune e a persistência de subpopulações tumorais resistentes. As populações de GSCs atuando sinergicamente com as TAMs, desempenham um papel importante nesse processo dada sua capacidade de plasticidade fenotípica, remodelação metabólica e modulação do MAT (Ghosh *et al.*, 2025).

A TMZ e a RT têm efeitos imunomoduladores no MAT, favorecendo a imunossupressão no GBM. A morte celular local causa uma explosão de ATP extracelular que inicia a cascata purinérgica e, subsequentemente, a via adenosinérgica na mesma intensidade (Scheffel *et al.*, 2021). ADO extracelular pode desempenhar diferentes funções no MAT que determinam a resistência terapêutica, representada por suas conexões com os receptores A2B (A2BR) e A3 (A3R) (Schäkel *et al.*, 2022).

No GBM, a maior expressão de A2BR e A3R é promovida pelo fator indutor de hipóxia 1 (HIF-1) (Torres *et al.*, 2019). A ativação desses receptores pela ADO pode induzir a via de sinalização da proteína quinase ativadora de mitógeno/quinase reguladora de sinal extracelular (MEK/ERK), que desencadeia a transcrição de genes de EMT, refletindo a reconstituição da matriz extracelular, levando à sobrevivência do tumor e à resistência terapêutica (Jia *et al.*, 2023).

A hipóxia é um fator importante na resistência terapêutica. Há um estímulo para a ativação de células iniciadas por glioma (GIC) e HIF-1, que aumentam a expressão de MGMT, diminuindo o efeito potencial da TMZ em células GBM residuais (Shaw *et al.*, 2024). O bloqueio combinado do HIF-1 pode representar um novo panorama a ser considerado ao abordar o GBM (Alsafwai *et al.*, 2021).

Recentemente, houve uma melhor compreensão do papel da hipóxia como a chave entre as vias adenosinérgica e dos ligantes de morte celular programada, desempenhando papéis importantes na resposta biológica do tumor frente às alternativas terapêuticas (Domènech *et al.*, 2022). De fato, a hipóxia desempenha um papel importante na resistência terapêutica, indução da imunossupressão, angiogênese, ganho metabólico, entre outras funções que favorecem o desenvolvimento tumoral (Bou-Gharios, Noël, Burckel; 2024).

Tumores deficientes em genes de reparo de incompatibilidade (MMR) com instabilidade de microssatélites (MSI) demonstraram regulação imunológica positiva com maior infiltração de TIL, o que pode estar associado à maior presença de neoantígenos relacionados ao tumor (Leelatian, Hong, Bindra; 2021). Indivíduos com deficiência primária de MMR demonstraram melhor resposta à imunoterapia quando comparados a indivíduos com deficiência de MMR após exposição a agentes alquilantes, como TMZ; justificando a razão de porque os tumores refratários ao protocolo Stupp, geralmente, apresentam menor resposta ao ICI (Ülgen et al., 2020).

4 METODOLOGIA

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo quantitativo transversal comparativo não-intervencional, que foi aprovado junto ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), sob número CAAE - 65163722.0.0000.5564. Todos os pacientes foram informados e consentiram por escrito em participar da pesquisa através de um Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE), sendo estudo conduzido de acordo com as diretrizes da Resolução nº466/12 do Conselho Nacional de Saúde e protocolos vigentes das instituições envolvidas.

A população de estudo foi composta de indivíduos diagnosticados com Gliomas de baixo grau ou Glioblastoma, procedentes da microrregião oeste de Santa Catarina, que possuíam elegibilidade cirúrgica para a ressecção do tumor. O cálculo amostral foi realizado com o auxílio do Software de Cálculo Amostral Comento. Foi determinado segundo parâmetros definidos pelos pesquisadores que são: a) Média de cirurgias realizadas em Chapecó-SC, nos últimos 3 anos (50); b) Nível de confiança (95%); c) Erro amostral (5%); d) Distribuição mais homogênea da população (80/20).

Portanto, a amostra foi composta por 42 participantes que foram divididos em 2 grupos: GBG para indivíduos com critérios de classificação para Gliomas de Baixo Grau (n=21) e GBM para indivíduos com com critérios de classificação para Glioblastoma (n=21).

Foram incluídos no estudo pacientes adultos, maiores de 18 anos, de ambos os sexos, diagnosticados por um médico especialista com Gliomas de baixo grau ou Glioblastoma, que foram submetidos à procedimentos cirúrgicos para retirada do tumor, e que não tenham realizado algum tipo de terapia neoadjuvante (quimioterapia ou radioterapia). Foram excluídos pacientes com diagnóstico de câncer metastático e/ou portadores de distúrbios neurodegenerativos (doença de Alzheimer, doença de Parkinson, esclerose lateral amiotrófica e esclerose múltipla).

Foram coletadas informações obtidas a partir dos prontuários médicos como idade, sexo, localização topográfica e grau de ressecção cirúrgica de acordo com os critérios definidos pelo pesquisador responsável.

4.2 COLETA E ARMAZENAMENTO DO TECIDO TUMORAL

A abordagem dos participantes ocorreu nas consultas de acompanhamento pré-operatório e a coleta de tecido tumoral foi realizada em um único momento, durante a ressecção cirúrgica por um médico neurocirurgião responsável.

Após a coleta, a peça tumoral foi dividida em duas porções: uma porção foi armazenada em microtubos com 1 ml de solução de formalina tamponada para fixação, e incluídas em blocos de parafina sendo acondicionadas no formato *Formalin-Fixed Paraffin-Embedded* (FFPE) para posterior análise imunohistoquímica e o outro fragmento, por sua vez, foi armazenado em microtubo com 1 ml de solução de estabilizadora de RNA (RNA later®) e armazenado em congelador a -80°C, conforme protocolos previamente padronizados.

4.3 ANÁLISE DA EXPRESSÃO PROTEICA POR IMUNOHISTOQUÍMICA

Para a análise por imunohistoquímica, foram selecionados 20 pacientes, sendo 10 de cada grupo pareados por sexo e idade. As lâminas foram obtidas com o auxílio do micrótomo Leica®, que realizou cortes de 5 µm de espessura nos blocos FFPE e fixados em lâminas para processamento histológico. Posteriormente, as lâminas foram levadas à estufa a 60°C por 20 minutos. Após, passaram por um processo de desparafinização usando xilol em temperatura ambiente e, em seguida, a hidratação foi realizada usando uma série de álcoois (100%, 95%, 85%, 70%, 50% e 30%) complementado com água ultrapura. A recuperação do epítipo e o bloqueio da peroxidase endógena foram realizadas segundo protocolo do kit Pierce™ Peroxidase IHC Detection (ThermoFisher Scientific, #36000, EUA).

As lâminas foram incubadas com os anticorpos primários anti-PD-L1 [clone 28-8] (ABCAM, #AB205921, EUA) e anti-CD73 (ABCAM, #AB202122, EUA), com diluição de 1:400 e 1:2000, respectivamente, em tampão PBS contendo albumina bovina (BSA) a 1% e azida sódica (NaN₃) a 0,1%, por 18 horas a 4°C em câmara úmida. Em seguida, foram incubadas com o anticorpo secundário conjugado com a enzima *Horseradish Peroxidase* (HRP) em diluições pré-estabelecidas pelo fabricante (ThermoFisher Scientific, #AB_228341, EUA). Após, a revelação foi realizada com castanha do cromógeno diaminobenzidina (DAB), seguida pela contra coloração em hematoxilina. Os cortes passaram por um processo de desidratação seriada em álcool (70%, 95% e 100%), seguido por clarificação em xilol.

Após a coloração procedeu-se à captura da imagem em microscópio Olympus, Modelo CX31, utilizando o campo claro e lente objetiva de 10x com aumento de 40x, acoplado a câmera Opticam OPTUHD 14.3 MP. As lâminas foram divididas em quatro quadrantes e foram capturadas três imagens, aleatoriamente, de cada quadrante e foram exportadas no formato TIFF para posterior leitura. O processamento e análise das imagens foram realizados com o software de domínio público ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, USA) e com o auxílio da extensão *IHC Toolbar* (Shu *et al*, 2013). Os resultados obtidos foram expressos em imunorreatividade pelo percentual de área total da imagem.

4.4 ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA POR RT-qPCR

Para a extração do RNA, foi utilizado protocolo com o reagente Trizol para isolamento de RNA em tecidos. Foi adicionado 1 ml de Trizol no microtubo contendo o tecido, seguindo o protocolo de extração de acordo com as especificações do fabricante (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EUA). Para melhor aproveitamento da amostra, realizou-se um novo procedimento de lavagem com isopropanol e etanol 75%. Após, foram ressuspensas em 20 µl de água livre de RNase. As concentrações totais de RNA foram medidas pelo espectrofotômetro Nanodrop® (Thermo Scientific, Wilmington, DE). Os valores médios foram usados para calcular a entrada total de RNA para a síntese de cDNA. A pureza do RNA foi estimada pela razão de absorbância A260 /A280.

O RNA extraído (até 10 µg de RNA em 50 µL de reação) foi tratado com a enzima DNase I (Ambion, Thermo Fisher Scientific) para remoção de possíveis fragmentos de DNA genômico contaminante, conforme orientações do fabricante. Para a retrotranscrição do RNA em uma molécula de DNA complementar (cDNA), foi utilizado o kit High Capacity Reverse Transcription (Applied Biosystems - Thermo Fisher Scientific). Em seguida, as reações foram submetidas aos seguintes ciclos de temperatura: 25°C por 10 minutos, 37°C por 120 minutos e 85°C por 5 minutos.

As reações de PCR quantitativa em tempo real (RT-qPCR) foram realizadas no termociclador QuantStudio™ 7 Pro (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific), com o protocolo “SYBR Green”. Em cada poço da placa de PCR, foi adicionado uma mistura de reagentes (1 µL de água ultrapura; 0,5 µL/cada dos primers *Forward* e *Reverse* - vide Quadro 01 - e 5 µL do SYBR Green) somados à 3 µL de cDNA (30 ng). O controle negativo continha 3 µL de água ultrapura em vez de cDNA e o controle positivo, por sua vez, representava a amostra já expressando os respectivos genes e foi usado para validar o fluxo de trabalho geral

da manipulação. As reações foram realizadas em triplicatas. A placa de PCR foi colocada no termociclador e, o ciclo de temperatura utilizado foi: 02 minutos a 50 °C, 02 minutos a 95 °C, 40 ciclos de 15 segundos a 95 °C e 1 minuto a 60 °C, seguido de avaliação da temperatura de *melting*.

Quadro 01 - Sequência dos primers *forward* e *reverse* para os genes alvo e de referência

Gene	Direção	Sequência (5' - 3')
PDL1 (<i>CD274</i>)	<i>Forward</i>	TGCCGACTACAAGCGAATTACTG
	<i>Reverse</i>	CTGCTTGTCCAGATGACTTCCGG
CD73 (<i>NT5E</i>)	<i>Forward</i>	GCCTGGGAGCTTACGATTTTG
	<i>Reverse</i>	TAGTGCCCTGGTACTGGTCCG
<i>ACTB</i>	<i>Forward</i>	TCCCTGGAGAAGAGCTACG
	<i>Reverse</i>	GTAGTTTCGTGGATGCCACA

A análise da expressão gênica por Quantificação Relativa foi realizada pelo Método do $\Delta\Delta Ct$. Nesta metodologia, a concentração relativa é dada pelas fórmulas:

$$\Delta Ct = Ct \text{ gene alvo} - Ct \text{ gene de referência}$$

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct - \Delta Ct \text{ amostra calibradora}$$

A expressão dos genes alvo na amostra em relação à amostra calibradora é obtida pela fórmula:

$$2^{-\Delta\Delta Ct}$$

Curvas-padrão para cada um dos genes (*CD274* e *NT5E*) e do gene de referência (actina B; *ACTB*) foram elaboradas para a análise das eficiências de reação (E), necessárias ao Método do $\Delta\Delta Ct$.

4.5 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DO PD-L1 (*CD274*) E CD73 (*NT5E*) EM BIÓPSIAS DE GBM EM DADOS DE BANCOS PÚBLICOS

Os dados de expressão de mRNA do PD-L1 (*CD274*) e CD73 (*NT5E*) em pacientes com GBM foram obtidos dos conjuntos de dados públicos do portal *The Cancer Genoma Atlas* (TCGA), disponível no endereço <https://tcga-data.nci.nih.gov/via> (acessado em

Dezembro de 2024) via navegador Xena Functional Genomics Explorer desenvolvido pela University of California, Santa Cruz (<https://xena.ucsc.edu>, acesso em Dezembro de 2024).

Foram selecionadas as amostras do estudo “TCGA Glioblastoma (GBM)” (n=631) e filtrados para tumores primários (n=602) e excluídas as que não tinham informações associadas ao *CD274* e *NT5E* resultando num total de 154 amostras. Os grupos foram estratificados de acordo com os níveis de expressão de *CD274/NT5E* em “-low” e “-high”, usando valores de expressão medianos como ponto de corte.

4.6 ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

Os dados foram tabulados e analisados primariamente utilizando o aplicativo LibreOffice Calc, e após, as análises estatísticas foram realizadas com o software GraphPad Prism 8 (Prism 8.3.1, GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). Os *outliers* foram identificados aplicando o teste de Grubbs e foram removidos posteriormente. A distribuição de normalidade dos grupos foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk, sendo todos classificados como não-paramétricos.

As diferenças de expressão gênica entre os grupos foram avaliadas pelo Teste de Mann-Whitney e aplicou-se o teste de Correlação de Spearman para avaliar a associação entre os marcadores analisados em cada um dos grupos (GBG e GBM) e a magnitude da força de correlação foi classificado segundo indicado por Schober *et al* (2018).

Os resultados foram apresentados como mediana e intervalo de confiança (IC 95%). As curvas de Kaplan-Meier foram empregadas para estimar o PFI e a SG e o teste de *log rank* (Mantel-Cox) foi utilizado para analisar as diferenças entre as curvas de sobrevida. Para todo o estudo, foram consideradas estatisticamente significantes as diferenças em que a probabilidade de rejeição da hipótese de nulidade foi menor que 5% ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

O presente estudo foi composto por 42 participantes. Os dados gerais de caracterização da amostra estão apresentados na Tabela 01.

Tabela 01 - Características gerais da amostra de pacientes dos grupos de GBG e GBM

	Grupos		Total (n=42)	p
	GBG (n=21)	GBM (n=21)		
Sexo				>0,999
Masculino	12	11	23 (54,8%)	
Feminino	09	10	19 (45,2%)	
Idade, em anos (±DP)	41,3 (±11,5)	64,5 (±9,9)	52,9 (±15,8)	<0,0001

Legenda: As comparações entre os grupos foi realizada por meio do teste exato de Fisher para a variável 'Sexo' e pelo teste *t* de Student para as médias de idade. Considerou-se significância estatística para valores de $p < 0,05$.

Em nossa amostra, foi observado uma predominância do sexo masculino (54,8%) em comparação com o sexo feminino (45,2%), com equilíbrio na distribuição dos sexos entre os grupos. Quanto à idade dos indivíduos, a amostra total foi composta por indivíduos adultos e apresentou uma média geral de 52,9±15,8 anos, o grupo GBM foi composto de indivíduos com a idade mais avançada (64,5±9,9 anos) quando contrastado com o grupo GBG (41,3±11,5 anos), com cerca de 13 anos a mais de diferença entre os grupos ($p < 0,0001$).

A Tabela 2 destaca a localização topográfica, lateralidade e grau de ressecção na amostra do estudo. A localização mais frequente foi no lobo frontal (38,1%), seguido do lobo parietal (23,8%), temporal (21,4%) e insular (14,3%). Os tumores insulares ocorreram exclusivamente no grupo de GBG, enquanto houve 1 paciente do grupo de GBM que teve apresentação multifocal da massa tumoral, em ambos os hemisférios cerebrais.

Quanto à lateralidade, houve predominância do hemisfério esquerdo (71,4%) principalmente no grupo de GBM (18 vs 2), com significância estatística quando comparado com o hemisfério contralateral ($p = 0,035$). A ressecção total foi o procedimento mais realizado em ambos os grupos (52,4%).

Tabela 02 - Localização topográfica dos tumores e grau de ressecção

	Grupos		Total (n=42)	p
	GBG (n=21)	GBM (n=21)		
Lobo				0,062
Frontal	07	09	16 (38,1%)	
Parietal	03	07	10 (23,8%)	
Temporal	05	04	09 (21,4%)	
Insular	06	00	06 (14,3%)	
Multifocal	00	01	01 (2,4%)	
Lateralidade				0,035
Direita	09	02	11 (26,2%)	
Esquerda	12	18	30 (71,4%)	
Multifocal	00	01	01 (2,4%)	
Grau de ressecção				0,402
Total	09	13	22 (52,4%)	
Subtotal	06	05	11 (26,2%)	
Parcial/Biópsia	06	03	09 (21,4%)	

Legenda: As comparações entre os grupos foram realizadas por meio do teste Qui-quadrado de Pearson. Considerou-se significância estatística para valores de $p < 0,05$.

A Tabela 3 descreve as características clínico-patológicas dos pacientes do estudo. A análise da sintomatologia inicial revelou que não houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,439$) na prevalência de déficit motor, déficit de linguagem ou cefaleia entre ambos os grupos.

O uso de corticoterapia e terapia anticonvulsivante, bem como o status funcional avaliado pela Escala de Performance de Karnofsky (KPS) na avaliação pré-operatória junto à equipe de assistência médica, demonstraram diferenças significativas entre os grupos. Pacientes com GBM apresentaram maior frequência de uso de corticoterapia ($p < 0,0001$) e

menor índice de KPS ($p=0,0005$). Por outro lado, pacientes com GBG exibiram prevalência no uso de terapia anticonvulsivante ($p<0,0001$).

Tabela 03 - Características clínico-patológicas da população de estudo

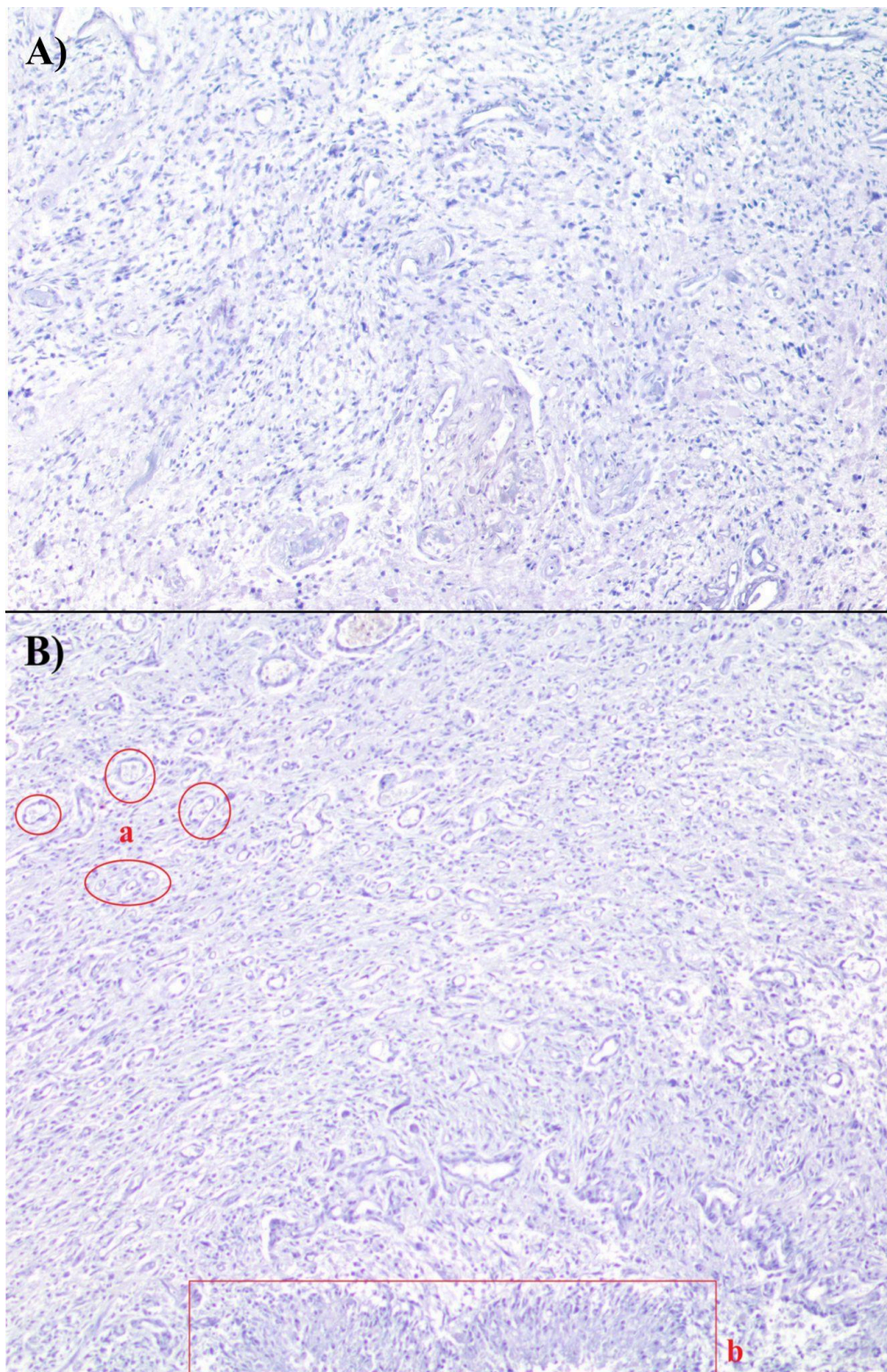
	Grupos		Total (n=42)	p
	GBG (n=21)	GBM (n=21)		
Sintomatologia inicial				0,439
Déficit Motor	06	09	15 (35,7%)	
Déficit de Linguagem	01	06	07 (28,6%)	
Cefaleia	06	09	15 (35,7%)	
Corticoterapia				<0,0001
Sim	03	17	20 (47,6%)	
Não	18	04	22 (52,4%)	
Terapia anticonvulsivante				<0,0001
Sim	16	03	23 (54,8%)	
Não	05	18	19 (45,2%)	
KPS				0,0005
≤ 70	04	16	20 (47,6%)	
> 70	17	05	22 (52,4%)	

Legenda: As comparações entre os grupos foram realizadas por meio do teste Qui-quadrado de Pearson para a variável ‘Sintomatologia’ e pelo teste exato de Fisher para as variáveis ‘Corticoterapia’, ‘Terapia anticonvulsivante’ e ‘KPS’. Considerou-se significância estatística para valores de $p<0,05$.

5.2 EXPRESSÃO PROTEICA DE PD-L1 E CD73

As análises histológicas deste estudo indicaram propriedades microscópicas características do microambiente tumoral de GBG e GBM, como representadas na Figura 04.

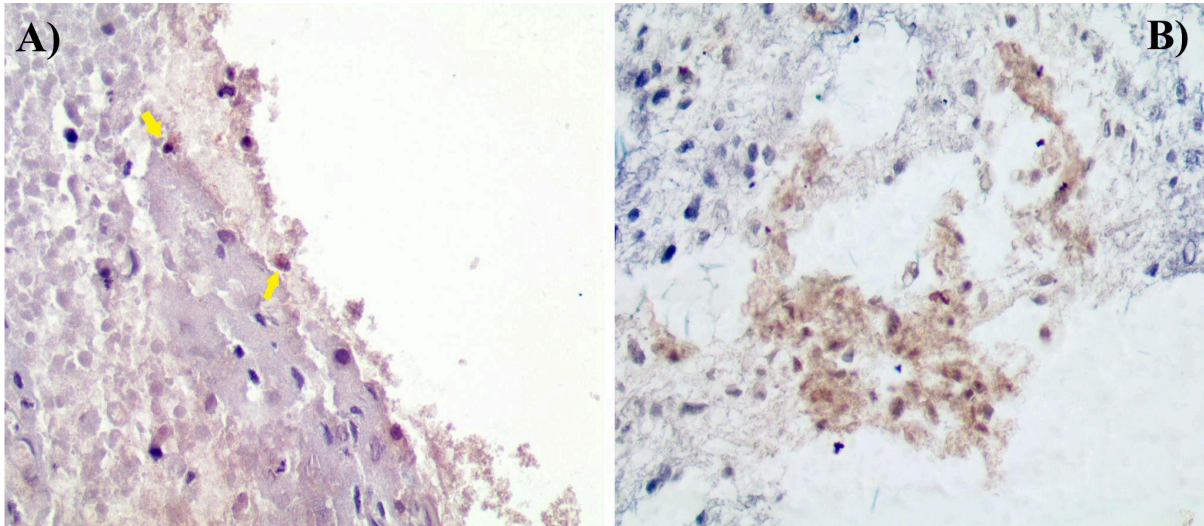
Figura 04 - Apresentação histológica de lâminas de pacientes com GBG e GBM



Legenda: Lâminas de tecido tumoral de pacientes com GBG (A) e GBM (B) coradas convencionalmente com Hematoxilina. A arquitetura celular do tecido cerebral apresenta-se alterada com hiper celularidade difusa, infiltração cortical e padrões alterados de morfologia celular com núcleos pleomórficos e hiper cromáticos distribuídos em um fundo fibrilar. Com destaque, o GBM (B) apresenta uma hiper celularidade ainda mais acentuada com proliferação endotelial e formação de redes de neovascularização (Ba) e áreas de necrose coagulativa em padrão de paliçada (Bb). Imagens capturadas por microscopia óptica em aumento de 100x.

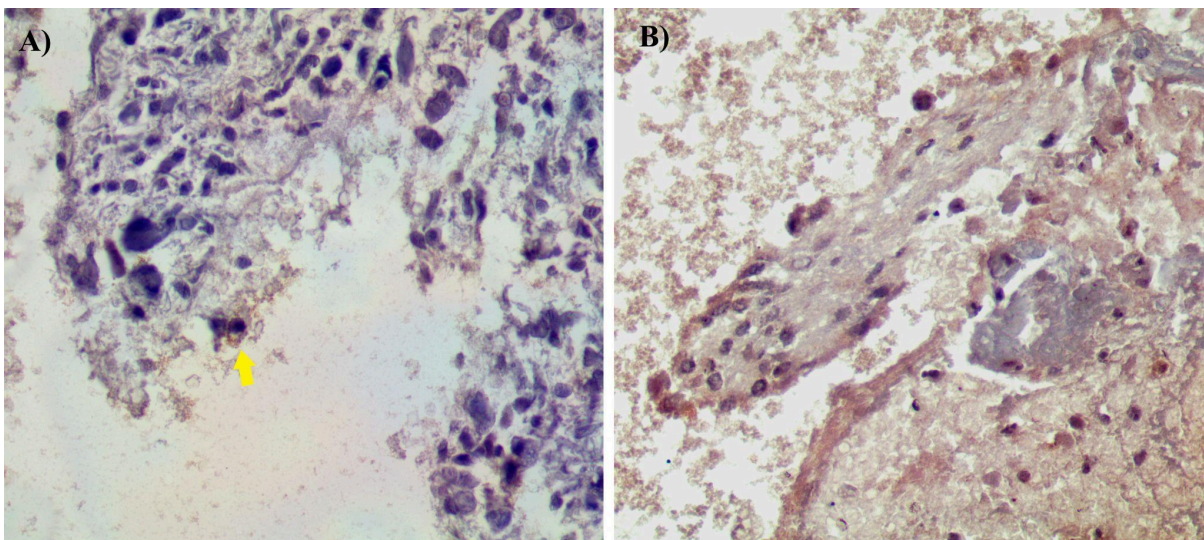
As análises de IHQ sinalizaram a expressão positiva dos antígenos específicos nos tecidos tumorais de GBG e GBM, indicando a imunorreatividade destes. A Figuras 05 e 06 apresentam uma representação dos achados para os biomarcadores nos respectivos tecidos. Na Figura 07 está apresentada a análise estatística comparativa da imunorreatividade quantificada entre os grupos.

Figura 05 - Imunorreatividade para o PD-L1 nos grupos de GBG e GBM



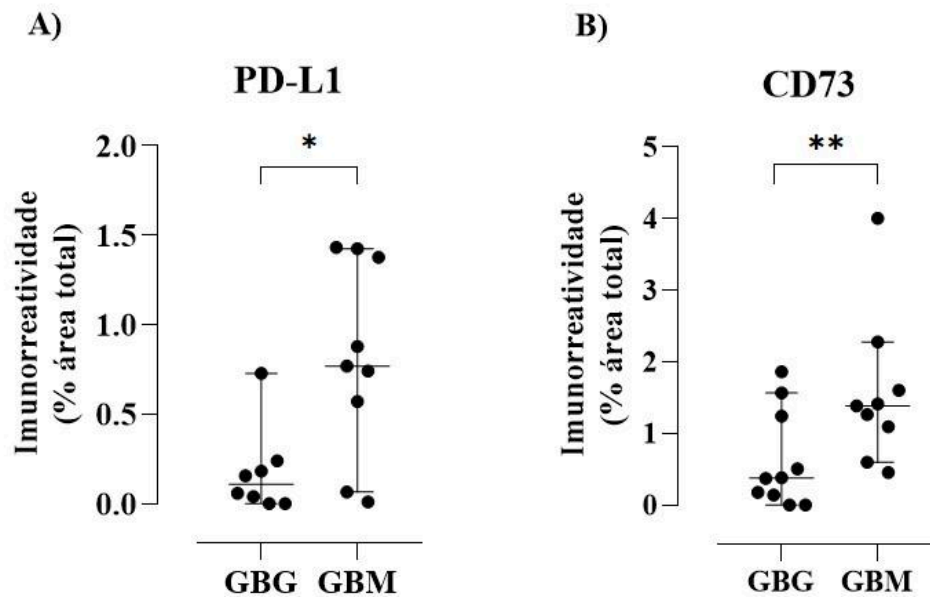
Legenda: Imagens capturadas por microscopia óptica em aumento de 400x retratando a imunoexpressão do PD-L1 (clone 28-8) em amostras de GBG (A) e GBM (B).

Figura 06 - Imunorreatividade para o CD73 nos grupos de GBG e GBM



Legenda: Imagens capturadas por microscopia óptica em aumento de 400x retratando a imunoexpressão do CD73 em amostras de GBG (A) e GBM (B).

Figura 07 - Análise comparativa da expressão proteica em amostras de GBG e GBM



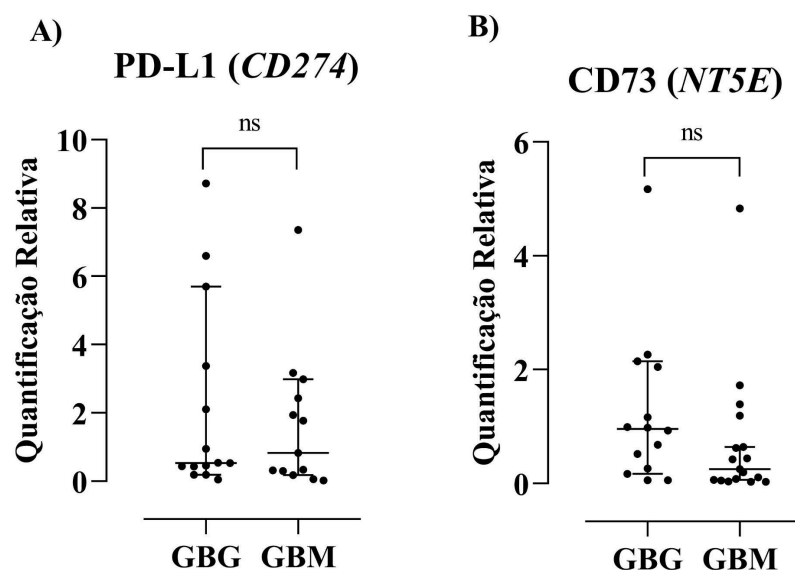
Legenda: Expressão proteica por imunorreatividade relativa das proteínas PD-L1 (A) e CD73 (B) nos grupos GBG e GBM. A comparação das medianas de expressão para o PD-L1 [GBG: 0,108 (IC95% 0,000-0,728) vs GBM: 0,769 (IC95% 0,065-1,425)] e CD73 [(GBG: 0,377; IC95% 0,000-1,566 vs GBM: 1,387; IC95% 0,599-2,280)] demonstraram diferença estatística entre os grupos para ambos os marcadores (* $p=0,014$; ** $p=0,021$). Realizado Teste de Mann-Whitney.

Na Figura 07A, estão apresentados os resultados de imunorreatividade relativa para o PD-L1, onde observa-se no grupo de GBG ($n=10$) um valor de 0,108 (IC95% 0,000-0,728) e no grupo GBM ($n=10$) um valor de 0,769 (IC95% 0,065-1,425). A análise comparativa entre os grupos indicou diferença estatisticamente significativa entre eles ($p=0,014$).

Na Figura 07B, por sua vez, apresenta os dados de imunorreatividade relativa de CD73 para os grupos GBG e GBM, sendo encontrado um valor de 0,377 (IC95% 0,000-1,566) vs GBM: 1,387 (IC95% 0,599-2,280), respectivamente. A diferença entre os grupos atingiu significância estatística ($p=0,021$).

5.3 EXPRESSÃO GÊNICA DE PD-L1 (*CD274*) E CD73 (*NT5E*) EM GBG E GBM

As análises de expressão gênica avaliaram a expressão relativa dos genes de interesse (*CD274* e *NT5E*), buscando as diferenças entre os grupos GBG e GBM. As respectivas análises estão representadas na Figura 08.

Figura 08 - Análise comparativa da expressão gênica em amostras de GBG e GBM

Legenda: Expressão relativa de mRNA dos genes *CD274* (A) e *NT5E* (B) nos grupos GBG e GBM. A comparação das medianas de expressão de *CD274* [GBG: 0,534 (IC95% 0,191-5,695) vs GBM: 0,825 (IC95% 0,178-2,982)] não encontrou diferença estatística entre os grupos ($p=0,616$). A comparação das medianas de expressão de *NT5E* (GBG: 0,956; IC95% 0,170-2,145 vs GBM: 0,252; IC95% 0,066-0,641) não encontrou diferença estatística entre os grupos ($p=0,070$). Realizado Teste de Mann-Whitney.

Na Figura 08A, estão apresentados os resultados, indicados pelos valores medianos, da expressão gênica relativa de *CD274* para cada grupo, onde observa-se no grupo de GBG ($n=17$) um valor de 0,534 (IC95% 0,191-5,695) e no grupo GBM ($n=19$) um valor de 0,825 (IC95% 0,178-2,982). A análise comparativa entre os grupos indicou não haver diferença estatisticamente significativa entre eles ($p=0,616$).

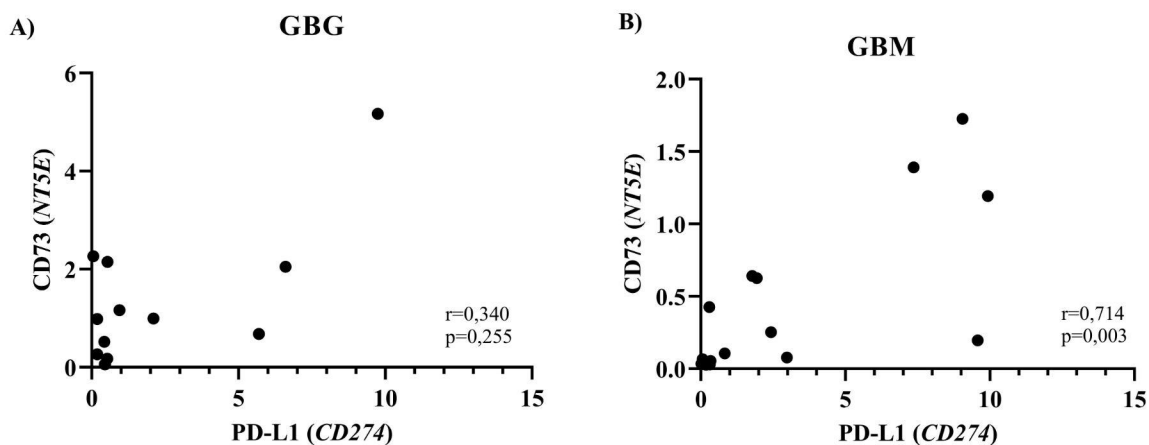
Ademais, a Figura 08B apresenta os dados de expressão gênica relativa de *NT5E* para os grupos GBG e GBM, sendo encontrado um valor de 0,956 (IC95% 0,170-2,145) vs 0,252 (IC95% 0,066-0,641), respectivamente. A diferença entre os grupos não atingiu significância estatística ($p=0,070$).

5.4 CORRELAÇÃO ENTRE A EXPRESSÃO GÊNICA RELATIVA DE PD-L1 (*CD274*) E CD73 (*NT5E*)

A correlação entre a expressão de *CD274* e *NT5E* foi avaliada separadamente para cada grupo utilizando o teste de Spearman, segundo apresentado na Figura 09. No grupo GBG, a análise de correlação entre PD-L1 e CD73 resultou em um coeficiente de Spearman (r) de 0,340 (IC95%: -0,275-0,758), indicando uma correlação positiva fraca e não estatisticamente significativa ($p=0,255$). Em contraste, no grupo de GBM, foi observada uma

correlação positiva forte ($r=0,714$; IC95%: 0,303-0,901) e estatisticamente significativa entre a expressão de PD-L1 e CD73 ($p=0,003$).

Figura 09 - Correlação entre a expressão de CD73 e PD-L1 em amostras de GBG e GBM



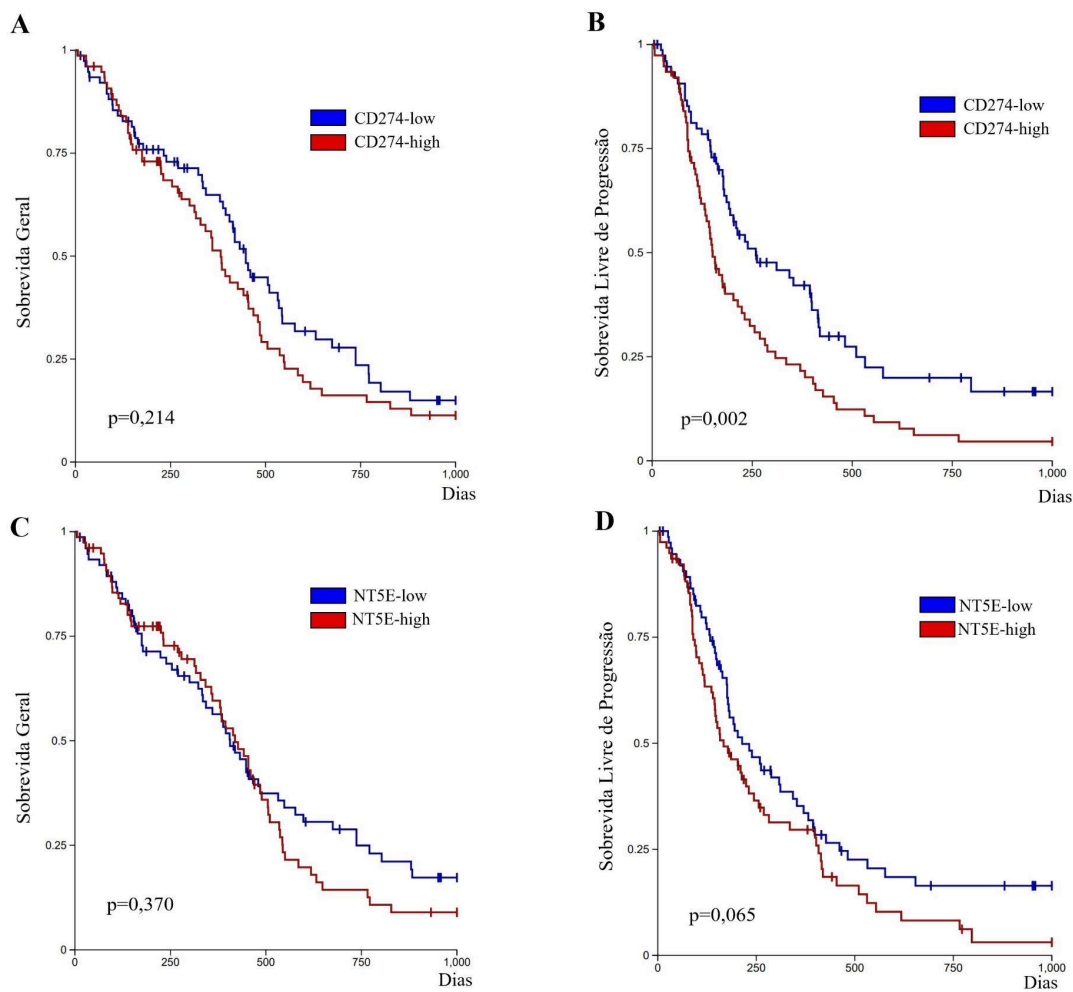
Legenda: Gráficos de dispersão representando a correlação entre a expressão relativa de PD-L1 e CD73 em amostras de GBG (A) e GBM (B). O coeficiente de correlação de Spearman para os grupos GBG e GBM foi de $r=0,340$ e $r=0,714$, respectivamente. Para o grupo de GBG, não encontrou-se significância estatística ($p=0,255$) e para o grupo GBM, por sua vez, encontrou-se correlação estatisticamente significativa ($p=0,003$). Realizado Teste de Correlação de Spearman.

5.5 EXPRESSÃO DO PD-L1 (*CD274*) E CD73 (*NT5E*) EM BIÓPSIAS DE GBM EM DADOS DE BANCOS PÚBLICOS

Consideramos avaliar dados transcriptômicos com a expressão dos genes *CD274* e *NT5E* em biópsias de GBM disponíveis em bancos de dados internacionais. Assim, realizamos uma análise com as informações depositados no TCGA com o objetivo de avaliar o potencial papel preditor de prognóstico desses marcadores no GBM, estratificando-os com os níveis de expressão dos respectivos genes, conforme retratado na Figura 10.

Encontramos que a maior expressão do *CD274* está associada há uma menor sobrevida livre de progressão (SLP) ($p=0,002$). A análise da sobrevida global (SG) no *CD274* não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p=0,214$), bem como os parâmetros de SG ($p=0,370$) e SLP ($p=0,065$) para o *NT5E*.

Figura 10 - Expressão de CD274/NT5E e prognóstico de pacientes com GBM



Legenda: A expressão de mRNA de CD274 (A, B) e do NT5E (C, D) foram correlacionadas com os desfechos clínicos de SG e SLP. As curvas de Kaplan–Meier foram criadas usando o banco de dados UCSC Xena, foram utilizadas as medianas ($\log^2[\text{norm_count}+1]$) de expressão do CD274 (4,916) e NT5E (10,070) como pontos de corte. A diferença entre os grupos deu-se pelo teste de *log rank* (Mantel–Cox).

6 DISCUSSÃO

O GBM é uma doença agressiva de curso variável, com um ruim prognóstico e que não tem apresentado melhorias significativas no manejo terapêutico nos últimos anos. Primeiramente, os subtipos mais diferenciados de Gliomas, como o GBM, são mais prevalentes em homens (Goldberg *et al.*, 2025). Assim como, as mulheres apresentam melhores taxas de SG e SLP, sobretudo quando menores de 60 anos (Reihanian *et al.*, 2024). Em nosso estudo, não encontramos diferença significativa entre os grupos, sendo determinado que o fator sexo é independente para o subtipo histológico do tumor.

Os GBG, geralmente, surgem em pacientes mais jovens do que o GBM, com idade média no diagnóstico de 47 e 54 anos, respectivamente (Ostrom *et al.*, 2023b). O GBM, por sua vez, tem um pico de prevalência em homens próximos à 6ª década de vida (Schaff, Mellinghoff; 2023). A idade média dos grupos seguiu a mesma tendência, sendo 41,3 para o grupo GBG e 64,5 para o GBM. Vale destacar que a amostra foi composta de indivíduos com elegibilidade para a ressecção cirúrgica e, neste caso, pode não contemplar idades mais avançadas ou pacientes com comorbidades restritivas que, desta forma, não receberam indicação ou optaram por não realizar o procedimento cirúrgico.

No que tange à topografia dos tumores, a literatura relata que cerca de 60% dos gliomas ocorrem no compartimento supratentorial (Pellerino *et al.*, 2022), em nosso estudo todos os tumores estavam presentes nos lobos encefálicos. E, assim como distribuído em nossas amostras, há um predomínio na ocorrência de tumores nos lobos frontal e temporal (Goldberg *et al.*, 2025).

Quanto à lateralidade, observou-se predominância de tumores no hemisfério esquerdo (71,4%), com maioria no grupo GBM. O acometimento do hemisfério esquerdo costuma apresentar piores taxas de função cognitiva pré-operatória e uma maior incidência de déficits de linguagem (Schei *et al.*, 2023; Fuenzalida *et al.*, 2024). A principal forma de ressecção observada foram as totais (62,9%), o que se alinha com as diretrizes atuais para o tratamento de Gliomas, que preconizam a ressecção máxima segura e viável, sendo fator determinante para sobrevida dos pacientes (Yalamarty *et al.*, 2023).

A ausência de diferença estatisticamente significativa na sintomatologia inicial entre os grupos (déficit motor, déficit de linguagem e cefaleia) sugere que, embora os GBM sejam tumores mais agressivos, sua apresentação inicial pode mimetizar a dos GBG, não sendo possível estabelecer um diagnóstico diferencial entre eles apenas pela apresentação clínica.

O maior uso de corticoterapia em pacientes com GBM é consistente com a literatura, que frequentemente associa esses tumores a um edema peritumoral mais pronunciado e sintomas neurológicos mais graves, exigindo manejo com corticosteróides para redução da pressão intracraniana (Sanvito *et al.*, 2025).

Por outro lado, observou-se uma maior frequência de uso de terapia anticonvulsivante em pacientes com GBG. Crises epilépticas são uma manifestação comum em pacientes com GBG devido à sua localização cortical e crescimento lento, que pode levar à irritabilidade neuronal crônica, sendo recomendado sua aplicação profilática em pacientes com tumores cerebrais, mesmo na ausência de crises (White *et al.*, 2025).

A maior prevalência de KPS ≤ 70 em pacientes com GBM reflete o impacto devastador desses tumores na funcionalidade do paciente. A KPS é um preditor prognóstico bem estabelecido na neuro-oncologia, e pontuações mais baixas estão associadas a um pior prognóstico e menor sobrevida em pacientes com GBM (Bao *et al.*, 2023).

Considerando a natureza mais agressiva do GBM, há uma expectativa maior de expressão dos receptores de checkpoint imunológicos em tumores de alto grau. Nossos achados indicaram uma maior produção de PD-L1 em pacientes com GBM quando comparados com GBG. Estudos anteriores demonstraram que os níveis proteicos elevados de PD-L1 estão diretamente correlacionados com a malignidade dos gliomas (Yao *et al.*, 2009; Mair *et al.*, 2020), sugerindo que a presença do PD-L1 possui um importante valor prognóstico e terapêutico (Vimalathas; Kristensen, 2022).

Entretanto, a análise da expressão gênica de PD-L1 (*CD274*) não demonstrou diferença estatística entre os grupos. De igual forma, outro estudo anterior também demonstrou uma variabilidade na expressão gênica de PD-L1 em GBG e GBM, sugerindo uma heterogeneidade no padrão de expressão desse receptor em tumores do SNC, principalmente no GBM (Mushir *et al.*, 2025).

Assim como, a CD73 desempenha um papel crucial na produção de ADO extracelular com função imunossupressora no MAT. A literatura sugere que a expressão gênica de CD73 pode ser elevada em células de glioma, independentemente do grau (Bedeschi *et al.*, 2025), assim como já foi demonstrado que vesículas extracelulares positivas para CD73 promovem a progressão do GBM (Wang *et al.*, 2021).

Nossos achados indicaram uma maior expressão proteica de CD73 em indivíduos com GBM quando comparadas com o grupo de pacientes com GBG e, embora não estatisticamente significativa, uma contraposição com a expressão gênica reduzida de CD73 no GBM em comparação com GBG.

Uma análise de assinaturas gênicas no MAT do GBM revelou que embora a expressão elevada de CD73 seja frequentemente observada no GBM, as evidências disponíveis indicam que essa superexpressão não está relacionada a alterações no próprio gene *NT5E*. Mutações, ganhos de cópia gênica ou rearranjos estruturais envolvendo esse gene são eventos raros no GBM, ocorrendo em menos de 0,5% dos casos (Coy et al., 2022).

A análise de correlação entre PD-L1 e CD73 revelou correlação positiva forte e estatisticamente significativa em GBM, enquanto em GBG a correlação foi fraca e não significativa. Esta diferença sugere que, no contexto do GBM, a expressão de PD-L1 e CD73 pode estar co-regulada atuando de forma associada. A co-expressão desses marcadores pode indicar um MAT mais imunossupressor, onde a via adenosinérgica - mediada pela CD73 - e a via PD-1/PD-L1 atuam sinergicamente para evadir a resposta imune antitumoral.

Os dados que correlacionam a expressão de mRNA do *CD274* e *NT5E* com a SG não revelaram diferença estatística. Na literatura, tem-se encontrado que uma maior expressão de PD-L1 está associada à uma menor sobrevivência, representando cerca de 150 dias a menos na estimativa (Sobhani et al., 2023; Zhu et al., 2020). Assim como, amostras *in silico* de GBM que apresentaram aumento da expressão de *NT5E* tiveram SG significativamente mais curta quando comparado com o controle (Braganhol et al., 2024).

Já os dados de progressão, por sua vez, indicaram que a superexpressão gênica do *CD274* (PD-L1) está associada à um menor SLP em pacientes com GBM. Em uma meta-análise anterior, pacientes com perfil de baixa expressão de PD-L1 e aumento da população de células TCD8+, não expostos a terapias, demonstraram melhores SLP quando comparados com pacientes com PD-L1 elevado (Shadbad et al., 2021).

Entretanto, a análise dos grupos de expressão aumentada e diminuída do *NT5E* para a SLP não apresentou diferença estatística entre eles. Um estudo de Wang e Matosevic (2019) indicou que a expressão elevada de *NT5E/CD73* está associada a piores desfechos de SLP e pode desempenhar um papel importante na agressividade do tumor e em sua resistência ao tratamento.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo buscou investigar o papel de biomarcadores de imunossupressão, PD-L1 e CD73, no MAT do GBM. Nossos resultados revelaram que há uma produção significativamente maior de ambas as moléculas no GBM, este achado associado com a análise na expressão gênica, sugere a existência de complexos mecanismos de regulação pós-transcricional que são exacerbados com a progressão da malignidade tumoral, representando uma lacuna importante e um campo fértil para futuras investigações.

Os resultados de expressão gênica, embora com limitações de significância estatística para as diferenças entre os grupos, destacam a complexidade da imunobiologia dos GBG e GBM. A forte correlação entre PD-L1 e CD73 no GBM aponta para um potencial sinergismo entre essas vias imunossupressoras, sugerindo que abordagens terapêuticas combinadas que visem ambos os marcadores podem ser mais eficazes no tratamento do GBM, superando a resistência terapêutica e reduzindo as taxas de efeitos colaterais.

A análise dos desfechos clínicos (SG e SLP) através do banco de dados do TCGA auxiliam na compreensão dos fenômenos associados ao GBM. Nesse sentido, podem ser realizadas meta-análises que busquem aprofundar e diversificar o perfil dos pacientes, de forma a representar de maneira mais fidedigna a realidade.

Como limitações do estudo: a amostra de pacientes é relativamente pequena, principalmente para uma doença notoriamente heterogênea, como o GBM. Uma amostra maior poderia revelar diferenças estatísticas que não foram capturadas. Além disso, a inclusão de outros marcadores do MAT na análise pode trazer luz aos mecanismos de imunossupressão do GBM e suas respectivas interações.

No geral, nossos dados e as evidências experimentais atuais fornecem uma forte justificativa para que ensaios clínicos investiguem a eficácia do bloqueio combinado do PD-L1 e CD73 no GBM. Em tempo, experimentos adicionais sobre a expressão de receptores e análises no tecido tumoral são necessários para corroborar e validar os resultados encontrados no presente estudo, a fim de que a modulação do eixo adenosinérgico possa integrar a base de novos fármacos e protocolos terapêuticos eficientes no controle da progressão do GBM.

REFERÊNCIAS

AHN, J. *et al.* Anthropometrics, cancer risks, and survival outcomes in adult patients with glioma – a systematic review and meta-analysis. **Acta Neurochirurgica**, v. 167, n. 1, p. 188, 10 jul. 2025.

ALSAFWANI, N. *et al.* Tumor-Infiltrating Lymphocytes Are Enriched in Nonhypoxic Glioblastoma Niches. **Journal of Neuropathology & Experimental Neurology**, v. 80, n. 2, p. 202–204, 20 jan. 2021.

ARAB, S.; HASANNEJAD, F. An overview of current therapeutic strategies for glioblastoma and the role of CD73 as an alternative curative approach. **Clinical and Translational Oncology**, v. 24, n. 5, p. 742–756, 18 nov. 2021.

AZAMBUJA, J. H. *et al.* CD73 Downregulation Decreases In Vitro and In Vivo Glioblastoma Growth. **Molecular Neurobiology**, v. 56, n. 5, p. 3260–3279, 2019.

BAO, H. *et al.* The involvement of brain regions associated with lower KPS and shorter survival time predicts a poor prognosis in glioma. **Frontiers in Neurology**, v. 14, p. 1264322, 4 dez. 2023.

BEDESCHI, M. *et al.* Glioblastoma Tumor Microenvironment and Purinergic Signaling: Implications for Novel Therapies. **Pharmaceuticals (Basel)**, v.18, n.3, p.385, 2025.

BRAGANHOL, E. *et al.* ENTPD1 (CD39) and NT5E (CD73) expression in human glioblastoma: an in silico analysis. **Purinergic Signalling**, v. 20, n. 3, p. 285–289, 2024.

CARDOSO, A. M.; *et al.* **Sinalização Purinérgica e Suas Implicações Fisiopatológicas.** Sinalização Purinérgica: Implicações Fisiopatológicas. In: CARDOSO, Andréia Machado; MANFREDI, Leonardo Henrique; MACIEL; Sarah Franco Vieira de Oliveira (org). Chapecó: Editora UFFS, p.15-27, 2021.

CHUNG, J.-S. *et al.* DC-HIL/Gpnmb Is a Negative Regulator of Tumor Response to Immune Checkpoint Inhibitors. **Clinical Cancer Research**, v. 26, n. 6, p. 1449–1459, 15 mar. 2020.

COY, S. *et al.* Single cell spatial analysis reveals the topology of immunomodulatory purinergic signaling in glioblastoma. **Nature Communications**, v. 13, n. 1, p. 4814, 16 ago. 2022.

DE LEVE, S.; WIRSDÖRFER, F.; JENDROSSEK, V. Targeting the Immunomodulatory CD73/Adenosine System to Improve the Therapeutic Gain of Radiotherapy. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 698, 5 abr. 2019.

DEBOM, G. N.; RUBENICH, D. S.; BRAGANHOL, E. Adenosinergic Signaling as a Key Modulator of the Glioma Microenvironment and Reactive Astrocytes. **Frontiers in Neuroscience**, v. 15, p. 648476, 5 jan. 2022.

DI NUNNO, V. *et al.* Tumor Microenvironment in Gliomas: A Treatment Hurdle or an Opportunity to Grab? **Cancers**, v. 15, n. 4, p. 1042, 7 fev. 2023.

DI VIRGILIO, F. *et al.* Extracellular ATP and P2 purinergic signalling in the tumour microenvironment. **Nature Reviews Cancer**, v. 18, n. 10, p. 601–618, 2018.

DOMÈNECH, M. et al. Hypoxia: The Cornerstone of Glioblastoma. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 22, p. 12608, 22 nov. 2021.

DUERINCK, J. et al. Intracerebral administration of CTLA-4 and PD-1 immune checkpoint blocking monoclonal antibodies in patients with recurrent glioblastoma: a phase I clinical trial. **Journal for ImmunoTherapy of Cancer**, v. 9, n. 6, p. e002296, 2021.

DYMOVA, M. A.; KULIGINA, E. V.; RICHTER, V. A. Molecular Mechanisms of Drug Resistance in Glioblastoma. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 12, p. 6385, 15 jun. 2021.

FALIH SOLIMAN, N.; JASIM MOHAMAD, B. The impact of CD37 ectoenzyme expression in benign and malignant colorectal tumors. **Archives of Razi Institute**, n. Online First, jun. 2022.

FERRARO, D.; ZALCBERG, J. Regorafenib in gastrointestinal stromal tumors: clinical evidence and place in therapy. **Therapeutic Advances in Medical Oncology**, v. 6, n. 5, p. 222–228, 2014.

FILLEY, A. C.; HENRIQUEZ, M.; DEY, M. Recurrent glioma clinical trial, CheckMate-143: the game is not over yet. **Oncotarget**, v. 8, n. 53, p. 91779–91794, 31 out. 2017.

FRANCIS, S. S. et al. The Epidemiology of Central Nervous System Tumors. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, v. 36, n. 1, p. 23–42, 2022.

FRANCO, R. et al. Adenosine Receptor Antagonists to Combat Cancer and to Boost Anti-Cancer Chemotherapy and Immunotherapy. **Cells**, v. 10, n. 11, p. 2831, 21 out. 2021.

GHOSH, N.; CHATTERJEE, D.; DATTA, A.. Tumor heterogeneity and resistance in glioblastoma: the role of stem cells. **Apoptosis**, v. 30, n. 7–8, p. 1695–1729, 2025.

GIRARDI, F. et al. Global survival trends for brain tumors, by histology: analysis of individual records for 556,237 adults diagnosed in 59 countries during 2000–2014 (CONCORD-3). **Neuro-Oncology**, v. 25, n. 3, p. 580–592, 14 mar. 2023.

GOLDBERG, M. et al. Do clinical outcomes in individuals with malignant gliomas differ between sexes? **Brain and Spine**, v. 5, p. 104172, 2025.

GOLDBERG, M. S. Improving cancer immunotherapy through nanotechnology. **Nature Reviews Cancer**, v. 19, n. 10, p. 587–602, 2019.

GOSWAMI, S. et al. Immune profiling of human tumors identifies CD73 as a combinatorial target in glioblastoma. **Nature Medicine**, v. 26, n. 1, p. 39–46, 2020.

HANAHAN, D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. **Cancer Discovery**, v. 12, n. 1, p. 31–46, 1 jan. 2022.

HE, X.; XU, C. Immune checkpoint signaling and cancer immunotherapy. **Cell Research**, v. 30, n. 8, p. 660–669, 2020.

HUANG, J. et al. Differential Expression of Adenosine P1 Receptor ADORA1 and ADORA2A Associated with Glioma Development and Tumor-Associated Epilepsy. **Neurochemical Research**, v. 41, n. 7, p. 1774–1783, 2016.

HUTAREW, G. et al. Methylome Profiling of PD-L1-Expressing Glioblastomas Shows Enrichment of Post-Transcriptional and RNA-Associated Gene Regulation. **Cancers**, v. 14, n. 21, p. 5375, 31 out. 2022.

JACKSON, E. R. *et al.* ONC201 in Combination with Paxalisib for the Treatment of H3K27-Altered Diffuse Midline Glioma. **Cancer Research**, v. 83, n. 14, p. 2421–2437, 14 jul. 2023.

JACKSON, L. R. et al. Understanding the Immune System and Biospecimen-Based Response in Glioblastoma: A Practical Guide to Utilizing Signal Redundancy for Biomarker and Immune Signature Discovery. **Current Oncology**, v. 32, n. 1, p. 16, jan. 2025.

JAIN, P.; VASHIST, S.; PANJIYAR, B. K. Navigating the Immune Challenge in Glioblastoma: Exploring Immunotherapeutic Avenues for Overcoming Immune Suppression. **Cureus**, 27 set. 2023.

JIA, W. et al. Purinergic signalling in cancer therapeutic resistance: From mechanisms to targeting strategies. **Drug Resistance Updates**, v. 70, p. 100988, 2023.

JIN, K. et al. Adenosinergic Pathway: A Hope in the Immunotherapy of Glioblastoma. **Cancers**, v. 13, n. 2, p. 229, 10 jan. 2021.

JUNGER, W. G. Immune cell regulation by autocrine purinergic signalling. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, n. 3, p. 201–212, 2011.

KAINA, B.; BELTZIG, L.; STRIK, H. Temozolomide – Just a Radiosensitizer? **Frontiers in Oncology**, v. 12, p. 912821, 16 jun. 2022.

KALLURI, A. L.; SHAH, P. P.; LIM, M. The Tumor Immune Microenvironment in Primary CNS Neoplasms: A Review of Current Knowledge and Therapeutic Approaches. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 3, p. 2020, 19 jan. 2023.

KANG, C. et al. The adenosinergic machinery in cancer: In-tandem insights from basic mechanisms to therapy. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1111369, 23 fev. 2023.

KOTECHA, R. *et al.* Key Clinical Principles in the Management of Glioblastoma. **JCO Oncology Practice**, v. 19, n. 4, p. 180–189, 2023.

KUMAR, S. et al. Targeting PD-1/PD-L1 in cancer immunotherapy: An effective strategy for treatment of triple-negative breast cancer (TNBC) patients. **Genes & Diseases**, v. 10, n. 4, p. 1318–1350, 2023.

KYRITSI, K. *et al.* Brain CD73 modulates interferon signaling to regulate glioblastoma invasion. **Neuro-Oncology Advances**, v. 7, n. 1, p. vdaf080, 6 jan. 2025.

LEE, S. H. et al. CDKN2A Homozygous Deletion Is a Stronger Predictor of Outcome than IDH1/2-Mutation in CNS WHO Grade 4 Gliomas. **Biomedicines**, v. 12, n. 10, p. 2256, 4 out. 2024.

LEELATIAN, N.; HONG, C. S.; BINDRA, R. S. The Role of Mismatch Repair in Glioblastoma Multiforme Treatment Response and Resistance. **Neurosurgery Clinics of North America**, v. 32, n. 2, p. 171–180, 2021.

LI, H. *et al.* Overcoming temozolomide resistance in glioma: recent advances and mechanistic insights. **Acta Neuropathologica Communications**, v. 13, n. 1, p. 126, 5 jun. 2025.

LI, X. *et al.* PI3K/Akt/mTOR signaling pathway and targeted therapy for glioblastoma. **Oncotarget**, v. 7, n. 22, p. 33440–33450, 31 maio 2016.

LI, Xiao-Peng *et al.* EGFR alterations in glioblastoma play a role in antitumor immunity regulation. **Frontiers in Oncology**, v. 13, p. 1236246, 4 ago. 2023.

LIM, M. *et al.* Phase III trial of chemoradiotherapy with temozolomide plus nivolumab or placebo for newly diagnosed glioblastoma with methylated *MGMT* promoter. **Neuro-Oncology**, v. 24, n. 11, p. 1935–1949, 2 nov. 2022.

LIMA, C. F. *et al.* Exploring the Expression of Adenosine Pathway-Related Markers CD73 and CD39 in Colorectal and Pancreatic Carcinomas Characterized by Multiplex Immunofluorescence: A Pilot Study. **Pathobiology**, v. 91, n. 3, p. 205–218, 2024.

LIU, Y. *et al.* Targeting the Negative Feedback of Adenosine-A2AR Metabolic Pathway by a Tailored Nanoinhibitor for Photothermal Immunotherapy. **Advanced Science**, v. 9, n. 14, p. 2104182, 2022.

LOMBARDI, G. *et al.* Regorafenib compared with lomustine in patients with relapsed glioblastoma (REGOMA): a multicentre, open-label, randomised, controlled, phase 2 trial. **The Lancet Oncology**, v. 20, n. 1, p. 110–119, 2019.

LOPES, J. *et al.* Ionizing radiation exposure during adulthood and risk of developing central nervous system tumors: systematic review and meta-analysis. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 16209, 28 set. 2022.

LOUIS, D. N. *et al.* The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. **Neuro-Oncology**, v. 23, n. 8, p. 1231–1251, 2 ago. 2021.

LOUSSOUARN, D. *et al.* Spatial Distribution of Immune Cells in Primary and Recurrent Glioblastoma: A Small Case Study. **Cancers**, v. 15, n. 12, p. 3256, 20 jun. 2023.

LU, B.; DU, S.; KONG, X.-T. Immune checkpoint inhibitors for the treatment of glioblastoma: Where we are. **Journal of Solid Tumors**, v. 10, n. 1, p. 7, 4 fev. 2020.

LUKSIK, A. S. *et al.* CAR T Cell Therapy in Glioblastoma: Overcoming Challenges Related to Antigen Expression. **Cancers**, v. 15, n. 5, p. 1414, 23 fev. 2023.

MAHMOUD, A. B. *et al.* Advances in immunotherapy for glioblastoma multiforme. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 944452, 12 out. 2022.

MAIR, M. J. *et al.* Soluble PD-L1 is associated with local and systemic inflammation markers in primary and secondary brain tumours. **ESMO Open**, v. 5, n. 6, p. e000863, 2020.

MARTINEZ, M.; MOON, E. K. CAR T Cells for Solid Tumors: New Strategies for Finding, Infiltrating, and Surviving in the Tumor Microenvironment. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 128, 5 fev. 2019.

MAZARAKIS, N. K. et al. Management of glioblastoma in elderly patients: A review of the literature. **Clinical and Translational Radiation Oncology**, v. 46, p. 100761, 2024.

MAZZIOTTA, C. et al. Cancer biology and molecular genetics of A3 adenosine receptor. **Oncogene**, v. 41, n. 3, p. 301–308, 12 jan. 2022.

MCKINNON, C. et al. Glioblastoma: clinical presentation, diagnosis, and management. **BMJ**, v. 374, p. n1560, 14 jul. 2021.

MILLER, D. M. et al. Untangling the web of glioblastoma treatment resistance using a multi-omic and multidisciplinary approach. **The American Journal of the Medical Sciences**, v. 366, n. 3, p. 185–198, 2023.

MUSHIR, S. I. et al. Unlocking the Glioblastoma Enigma: Exploring PD-L1 (Programmed Death-Ligand 1) and IDH1 (Isocitrate Dehydrogenase-1) Expression and Their Immunotherapeutic Implications. **Cureus**, v.17, n.1, p.e76920, 2025.

NEYNS, B. et al. GLIAX: A stratified phase II clinical trial of avelumab and axitinib in patients with recurrent glioblastoma. **Journal of Clinical Oncology**, v. 37, n. 15_suppl, p. 2034–2034, 20 maio 2019.

NG, A. T. et al. The challenges and clinical landscape of glioblastoma immunotherapy. **CNS Oncology**, v. 13, n. 1, p. 2415878, 31 dez. 2024.

OMURO, A. et al. Radiotherapy combined with nivolumab or temozolomide for newly diagnosed glioblastoma with unmethylated *MGMT* promoter: An international randomized phase III trial. **Neuro-Oncology**, v. 25, n. 1, p. 123–134, 5 jan. 2023.

OSTROM, Q. T. et al. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2013–2017. **Neuro-Oncology**, v. 22, n. Supplement_1, p. iv1–iv96, 30 out. 2020.

OSTROM, Q. T. et al. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2016–2020. **Neuro-Oncology**, v. 25, n. Supplement_4, p. iv1–iv99, 4 out. 2023b.

OSTROM, Q. T. et al. National-level overall survival patterns for molecularly-defined diffuse glioma types in the United States. **Neuro-Oncology**, v. 25, n. 4, p. 799–807, 6 abr. 2023a.

OSTROM, Q. T. et al. Risk factors for childhood and adult primary brain tumors. **Neuro-Oncology**, v. 21, n. 11, p. 1357–1375, 4 nov. 2019.

OTT, M. et al. Profiling of patients with glioma reveals the dominant immunosuppressive axis is refractory to immune function restoration. **JCI Insight**, v. 5, n. 17, p. e134386, 3 set. 2020.

PAN, Z. et al. The association between allergy and risk of brain tumors: Evidence from 40 observational studies. **Acta Neurochirurgica**, v. 167, n. 1, p. 111, 21 abr. 2025.

PANG, L. et al. Pharmacological targeting of the tumor–immune symbiosis in glioblastoma. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 43, n. 8, p. 686–700, 2022.

PELLERINO, A. et al. Epidemiology, risk factors, and prognostic factors of gliomas. **Clinical and Translational Imaging**, v. 10, n. 5, p. 467–475, 1 out. 2022.

POLI, A. et al. Allergic airway inflammation delays glioblastoma progression and reinvigorates systemic and local immunity in mice. **Allergy**, v. 78, n. 3, p. 682–696, 2023.

POLITIS, A. et al. Glioblastoma: Molecular features, emerging molecular targets and novel therapeutic strategies. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 212, p. 104764, 2025.

POUESSEL, D. et al. Hypofractionated Stereotactic Re-irradiation and Anti-PDL1 Durvalumab Combination in Recurrent Glioblastoma: STERIMGLI Phase I Results. **The Oncologist**, v. 28, n. 9, p. 825-e817, 7 set. 2023.

PRICE, M. et al. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2017–2021. **Neuro-Oncology**, v. 26, n. Supplement_6, p. vi1–vi85, 6 out. 2024.

PU, J. et al. Glioblastoma multiforme: an updated overview of temozolomide resistance mechanisms and strategies to overcome resistance. **Discover Oncology**, v. 16, n. 1, p. 731, 12 maio 2025.

RAFII, S. et al. A2AR as a Prognostic Marker and a Potential Immunotherapy Target in Human Glioma. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 7, p. 6688, jan. 2023.

REARDON, D. A. et al. Effect of Nivolumab vs Bevacizumab in Patients With Recurrent Glioblastoma: The CheckMate 143 Phase 3 Randomized Clinical Trial. **JAMA Oncology**, v. 6, n. 7, p. 1003, 1 jul. 2020.

REARDON, D. A. et al. OS10.3 Randomized Phase 3 Study Evaluating the Efficacy and Safety of Nivolumab vs Bevacizumab in Patients With Recurrent Glioblastoma: CheckMate 143. **Neuro-Oncology**, v. 19, n. suppl_3, p. iii21–iii21, 2017.

REARDON, D. A. et al. Phase II study to evaluate safety and efficacy of MEDI4736 (durvalumab) + radiotherapy in patients with newly diagnosed unmethylated MGMT glioblastoma (new unmeth GBM). **Journal of Clinical Oncology**, v. 37, n. 15_suppl, p. 2032–2032, 20 maio 2019.

REARDON, D. A. et al. Treatment with pembrolizumab in programmed death ligand 1–positive recurrent glioblastoma: Results from the multicohort phase 1 KEYNOTE-028 trial. **Cancer**, v. 127, n. 10, p. 1620–1629, 15 maio 2021.

REIHANIAN, Z. et al. Impact of Age and Gender on Survival of Glioblastoma Multiforme Patients: A Multicenter Retrospective Study. **Cancer Reports**, v. 7, n. 11, p. e70050, 2024.

REZANEJAD-ASL, P. et al. Pre-diagnostic risk factors for brain cancer incidence and survival: insights from the Golestan Cohort Study. **BMC Cancer**, v. 25, n. 1, p. 210, 7 fev. 2025.

RIZWANI, F.; PATIL, P.; JAIN, K. Unlocking glioblastoma: breakthroughs in molecular mechanisms and next-generation therapies. **Medical Oncology**, v. 42, n. 7, p. 276, 21 jun. 2025.

SABBAGH, A. *et al.* Opening of the Blood–Brain Barrier Using Low-Intensity Pulsed Ultrasound Enhances Responses to Immunotherapy in Preclinical Glioma Models. **Clinical Cancer Research**, v. 27, n. 15, p. 4325–4337, 1 ago. 2021.

SALVATO, I.; MARCHINI, A. Immunotherapeutic Strategies for the Treatment of Glioblastoma: Current Challenges and Future Perspectives. **Cancers**, v. 16, n. 7, p. 1276, 25 mar. 2024.

SÁNCHEZ-MELGAR, A. *et al.* Antitumoral Action of Resveratrol Through Adenosinergic Signaling in C6 Glioma Cells. **Frontiers in Neuroscience**, v. 15, p. 702817, 1 set. 2021.

SANVITO, F. *et al.* Impact of corticosteroid administration on contrast-enhancing volume and diffusion MRI in treatment naïve glioblastoma. **Neuro-Oncology**, p. noaf136, 30 maio 2025.

SCHAFF, L. R.; MELLINGHOFF, I. K. Glioblastoma and Other Primary Brain Malignancies in Adults: A Review. **JAMA**, v. 329, n. 7, p. 574, 21 fev. 2023.

SCHÄKEL, L. *et al.* Protein kinase inhibitor ceritinib blocks ectonucleotidase CD39 – a promising target for cancer immunotherapy. **Journal for ImmunoTherapy of Cancer**, v. 10, n. 8, p. e004660, 2022.

SCHALPER, K. A. *et al.* Neoadjuvant nivolumab modifies the tumor immune microenvironment in resectable glioblastoma. **Nature Medicine**, v.25, n.3, p.470–476, 2019.

SCHEFFEL, T. B. *et al.* Immunosuppression in Gliomas via PD-1/PD-L1 Axis and Adenosine Pathway. **Frontiers in Oncology**, v. 10, p. 617385, 15 fev. 2021.

SCHEI, S. *et al.* Association between patient-reported cognitive function and location of glioblastoma. **Neurosurgical Review**, v. 46, n. 1, p. 282, 25 out. 2023.

SCHOBER, P.; BOER, C.; SCHWARTE, L. A. *et al.* Correlation Coefficients: Appropriate Use and Interpretation. **Anesthesia & Analgesia**, v.126, n.5, p.1763-1768, 2018.

SEKER-POLAT, F. *et al.* Tumor Cell Infiltration into the Brain in Glioblastoma: From Mechanisms to Clinical Perspectives. **Cancers**, v. 14, n. 2, p. 443, 17 jan. 2022.

SHADBAD, M. A. *et al.* A Systematic Review of the Tumor-Infiltrating CD8+ T-Cells/PD-L1 Axis in High-Grade Glial Tumors: Toward Personalized Immuno-Oncology. **Frontiers in Immunology**, v. 12, p. 734956, 17 set. 2021.

SHAW, R. *et al.* MGMT in TMZ-based glioma therapy: Multifaceted insights and clinical trial perspectives. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, v. 1871, n. 3, p. 119673, 2024.

SHI, F. *et al.* The dual PI3K/mTOR inhibitor dactolisib elicits anti-tumor activity *in vitro* and *in vivo*. **Oncotarget**, v. 9, n. 1, p. 706–717, 2 jan. 2018.

SHU, J.; QIU, G.; ILYAS, M. A Semi-automatic Image Analysis Tool for Biomarker Detection in Immunohistochemistry Analysis. **2013 Seventh International Conference on Image and Graphics**, 2013.

SILVA, L. F. L. *et al.* Assessing the impact of CD73 inhibition on overcoming anti-EGFR resistance in glioma cells. **Oncology Research**, v. 33, n. 4, p. 951–964, 2025.

SOBHANI, N. *et al.* Analysis of PD-L1 and CD3 Expression in Glioblastoma Patients and Correlation with Outcome: A Single Center Report. **Biomedicines**, v. 11, n. 2, p. 311, 22 jan. 2023.

STUPP, R. *et al.* Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma. **New England Journal of Medicine**, v. 352, n. 10, p. 987–996, 10 mar. 2005.

TAN, A. C. *et al.* Management of glioblastoma: State of the art and future directions. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 70, n. 4, p. 299–312, 2020.

TANAKA, T.; NARAZAKI, M.; KISHIMOTO, T. Immunotherapeutic Implications of Il-6 Blockade for Cytokine Storm. **Immunotherapy**, v. 8, n. 8, p. 959–970, 2016.

TANG, Q. *et al.* The role of PD-1/PD-L1 and application of immune-checkpoint inhibitors in human cancers. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 964442, 13 set. 2022.

TESILEANU, C. M. S. *et al.* Survival of diffuse astrocytic glioma, IDH1/2 wildtype, with molecular features of glioblastoma, WHO grade IV: a confirmation of the cIMPACT-NOW criteria. **Neuro-Oncology**, v. 22, n. 4, p. 515–523, 15 abr. 2020.

TOMASZEWSKI, W. *et al.* Brain Tumor Microenvironment and Host State: Implications for Immunotherapy. **Clinical Cancer Research**, v. 25, n. 14, p. 4202–4210, 15 jul. 2019.

TORRES, Á. *et al.* Extracellular adenosine promotes cell migration/invasion of Glioblastoma Stem-like Cells through A3 Adenosine Receptor activation under hypoxia. **Cancer Letters**, v. 446, p. 112–122, 2019.

TOUAT, M. *et al.* Mechanisms and therapeutic implications of hypermutation in gliomas. **Nature**, v. 580, n. 7804, p. 517–523, 23 abr. 2020.

TRAN, S.; BIELLE, F. WHO 2021 and beyond: new types, molecular markers and tools for brain tumor classification. **Current Opinion in Oncology**, 13 set. 2022.

TSIAMPALI, J. *et al.* Enzymatic Activity of CD73 Modulates Invasion of Gliomas via Epithelial–Mesenchymal Transition-Like Reprogramming. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 11, p. 378, 11 nov. 2020.

ÜLGEN, E. *et al.* Whole exome sequencing–based analysis to identify DNA damage repair deficiency as a major contributor to gliomagenesis in adult diffuse gliomas. **Journal of Neurosurgery**, v. 132, n. 5, p. 1435–1446, 2020.

VALENZUELA-FUENZALIDA, J. J. *et al.* Association between the Anatomical Location of Glioblastoma and Its Evaluation with Clinical Considerations: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of Clinical Medicine**, v. 13, n. 12, p. 3460, 13 jun. 2024.

VIJAYANATHAN, Y.; HO, I. A. W. The Impact of Metabolic Rewiring in Glioblastoma: The Immune Landscape and Therapeutic Strategies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 2, p. 669, 14 jan. 2025.

- VIMALATHAS, G.; KRISTENSEN, B. W. Expression, prognostic significance and therapeutic implications of PD-L1 in gliomas. **Neuropathology and Applied Neurobiology**, v. 48, n. 1, p. e12767, 2022.
- VRANIC, S.; GATALICA, Z. PD-L1 testing by immunohistochemistry in Immuno-Oncology. **Bosnian Journal of Basic Medical Sciences**, 7 ago. 2022.
- WANG, J.; MATOSEVIC, S. NT5E/CD73 as Correlative Factor of Patient Survival and Natural Killer Cell Infiltration in Glioblastoma. **Journal of Clinical Medicine**, v. 8, n. 10, p. 1526, 23 set. 2019.
- WANG, M.; JIA, J.; CUI, Y. et al. CD73-positive extracellular vesicles promote glioblastoma immunosuppression by inhibiting T-cell clonal expansion. **Cell Death Dis**, v.12, n.11, p.1065, 2021.
- WANG, W. *et al.* Identification of hypoxic macrophages in glioblastoma with therapeutic potential for vasculature normalization. **Cancer Cell**, v. 42, n. 5, p. 815- 832.e12, 2024.
- WEN, P. Y.; PACKER, R. J. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: clinical implications. **Neuro-Oncology**, v. 23, n. 8, p. 1215–1217, 2 ago. 2021.
- WHITE, L. *et al.* Antiseizure medications for preventing a first seizure in adults with a brain tumour. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 2025, n. 7, 2 jul. 2025.
- WILLINGHAM, S. B.; HOTSON, A. N.; MILLER, R. A. Targeting the A2AR in cancer; early lessons from the clinic. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 53, p. 126–133, ago. 2020.
- YALAMARTY, S. S. K. et al. Mechanisms of Resistance and Current Treatment Options for Glioblastoma Multiforme (GBM). **Cancers**, v. 15, n. 7, p. 2116, 1 abr. 2023.
- YAN, A. et al. CD73 Promotes Glioblastoma Pathogenesis and Enhances Its Chemoresistance via A_{2B} Adenosine Receptor Signaling. **The Journal of Neuroscience**, v. 39, n. 22, p. 4387–4402, 29 maio 2019.
- YAO, Y. et al. B7-H1 is correlated with malignancy-grade gliomas but is not expressed exclusively on tumor stem-like cells. **Neuro-Oncology**, v. 11, n. 6, p. 757–766, 1 dez. 2009.
- ZHU, Z. et al. PD-L1-Mediated Immunosuppression in Glioblastoma Is Associated With the Infiltration and M2-Polarization of Tumor-Associated Macrophages. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 588552, 30 nov. 2020.
- ZIMMERMANN, H. History of ectonucleotidases and their role in purinergic signaling. **Biochemical Pharmacology**, v. 187, p. 114322, 2021.

ANEXO I



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
Rodovia SC 484 - Km 02, Fronteira Sul, 89815-899 (49) 2049-6428
sec.ppgcb@uffs.edu.br

Comitê de Ética em Pesquisa - CEP/UFFS
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)
“NEOPLASIAS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL:
ANÁLISE DO SISTEMA PURINÉRGICO E ESTRESSE OXIDATIVO”

Prezado participante,

Você está sendo convidado(a) a participar da pesquisa intitulada “Neoplasias do Sistema Nervoso Central: análise do sistema purinérgico e estresse oxidativo”. Desenvolvida pela Prof^a Dr^a Débora Tavares de Resende e Silva, pesquisadora responsável e docente do curso de Medicina, Enfermagem e do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas (PPGCB) da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), campus Chapecó-SC.

O objetivo central da pesquisa é avaliar a atividade e expressão dos componentes do sistema purinérgico, que representam uma importante forma de comunicação de partes do organismo com outras e, além disso, buscamos examinar o estresse no metabolismo resultante dos distúrbios que a doença causa por meio de parâmetros do perfil oxidante e antioxidante e marcadores tumorais, presentes no sangue, em pacientes com diagnóstico de Neoplasia no Sistema Nervoso Central.

Portanto, estudos como este servem de base científica para mais pesquisas clínicas de diagnóstico e tratamento sobre o sistema purinérgico e o estresse oxidativo nas Neoplasias do Sistema Nervoso Central, o que acarreta possíveis diminuições de custos no sistema público de saúde, melhorias na qualidade de vida dos pacientes e uma redução dos efeitos adversos decorrente dessa doença.

O convite à sua participação se deve porque identificamos o seu diagnóstico de uma classe de Neoplasia do Sistema Nervoso Central e por submeter-se a um procedimento cirúrgico de retirada desse tumor. E, também, por possuir mais de 18 anos de idade e sem

histórico de doença crônica associada e, por esta razão, se adéqua aos critérios de inclusão estabelecidos para este estudo.

Vale reforçar que a sua participação não é obrigatória e você tem plena autonomia para decidir se quer ou não participar, bem como desistir da colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação e sem nenhuma forma de penalização. Você não será penalizado de nenhuma maneira caso decida não consentir sua participação, ou desista da mesma. Contudo, ela é muito importante para a execução da pesquisa.

Você não receberá remuneração e nenhum tipo de recompensa nesta pesquisa, sendo sua participação voluntária. 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 e o material armazenado em local seguro. Os resultados serão divulgados em eventos e/ou publicações científicas mantendo sigilo dos dados pessoais.

A qualquer momento, durante a pesquisa, ou posteriormente, você poderá solicitar do pesquisador informações sobre sua participação e/ou sobre a pesquisa, o que poderá ser feito através dos meios de contato explicitados neste Termo. Essas amostras biológicas e os dados coletados nos prontuários ficarão sob a guarda do pesquisador responsável na Universidade Federal da Fronteira Sul e serão utilizados exclusivamente para o desenvolvimento dessa pesquisa e em conformidade com o projeto de estudo. Desse modo, elas somente poderão ser utilizadas em pesquisas futuras mediante ao incremento de nova autorização do participante.

Sua participação consistirá em consentir com o acesso ao prontuário eletrônico do paciente para caracterização da amostra, e com o aproveitamento e armazenamento do material tumoral removido durante a cirurgia. Sobre a neurocirurgia, é importante salientar que essa pesquisa não impactará no ato de ressecção cirúrgica, pois será aproveitado e armazenado unicamente o material biológico tumoral que foi removido no procedimento cirúrgico. Esse material é composto por tecido retirado, pelo neurocirurgião, da lesão ou tumor do tecido nervoso do cérebro ou da medula espinhal e não comprometerá a amostragem específica de análise do material para conduta médica e terapêutica pós-cirúrgica pelo fim de coleta para a pesquisa. Além disso, permitir a coleta de sangue por meio de uma punção venosa realizada por uma equipe de enfermagem devidamente qualificada e seguindo o rigor metodológico, coletará 30 ml de amostra sanguínea que será acondicionada em tubos de coletas de materiais biológicos (tubo com citrato, tubo sem anticoagulante e tubo com EDTA).

Todo o material biológico coletado, será devidamente acondicionado e encaminhado imediatamente para as dependências da Universidade, utilizado exclusivamente dentro dos laboratórios da UFFS para fins de pesquisa.

Estas as amostras coletadas, Instituição hospitalar parceira de referência na cidade de Chapecó, serão condicionadas imediatamente, pelos pesquisadores, em refrigeração nas caixas térmicas de isopor, até o término das coletas do dia. Assim, as baixas temperaturas, do ambiente interno da caixa, serão controladas por intermédio de um termômetro e placas de gelo e serão mantidas adequadamente para preservar as propriedades biológicas da amostra, as quais serão encaminhadas, de forma que o transporte seja rápido e ágil, até os laboratórios da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS. Nesse local, as amostras serão separadas em soro, por meios automatizados, para que então ocorram as análises. Igualmente, no laboratório dessa instituição de ensino, as amostras biológicas serão armazenadas em refrigeradores por tempo necessário para a realização do estudo descrito no cronograma de desenvolvimento do projeto. Após esse período, será realizado o descarte das amostras conforme protocolos estabelecidos para tal procedimento. Além disso, o descarte dos tubo de coleta e dos demais materiais infectantes e perfurocortantes será realizado pelos pesquisadores na UFFS de acordo com orientações descritas nos protocolos institucionais.

A presente pesquisa tem o propósito de promover a ampliação do conhecimento biológico e do desenvolvimento das ciências médicas. Dessa forma, os pesquisadores estimam que, no decorrer da análise dos resultados laboratoriais caracterizados, existem possibilidades de obterem dados os quais podem fornecer uma base científica para a estruturação de procedimentos médicos inovadores e a ampliação e especificação de novas intervenções médicas no combate às neoplasias. De tal forma, evidenciasse que, esses conhecimentos podem resultar em novas informações ou na confirmação de estudos já registrados na literatura, que são primordiais para o desenvolvimento tecnológico científico e para a facilitação do diagnóstico e do tratamento médico das neoplasias do sistema nervoso central. Tais eventos resultam no aumento da capacidade científica promover a prevenção em saúde, o combate ao câncer e o alívio do sofrimento dos pacientes, de modo que isso pode trazer benefícios posteriores à sociedade. Ademais, pode elencar que os principais benefícios imediatos aos contribuintes da pesquisa estão na colaboração deles com os avanços médicos que podem proporcionar resultados úteis no combate à doença e trazer maior qualidade de vida para as pessoas e comunidade.

Assim, os benefícios relacionados com a sua colaboração nesta pesquisa são, contribuir diretamente para o avanço científico nas áreas da progressão de tumores e no

controle, prevenção e tratamento para as Neoplasias do Sistema Nervoso Central, colaborando com os avanços da medicina e trazendo bem-estar, conforto e comodidade a diversas pessoas. A participação na pesquisa poderá causar riscos, principalmente na extração do material biológico, quanto à coleta sanguínea pode ocorrer dor, extravasamento de fluidos intravenosos, edema e hematoma no local da punção, já na coleta do material tumoral, por sua vez, os riscos estão associados ao procedimento cirúrgico conforme sinalizado pelo médico cirurgião anteriormente. Vale destacar que esses potenciais riscos serão amenizados, pois serão realizados por um profissional qualificado e com experiência para desempenhar a atividade.

Igualmente, dentre as medidas reparatórias, caso os riscos físicos venham a se concretizar, estão a aplicação de técnicas cabíveis e adequadas para a reparação do dano, por profissional qualificado, e orientações, com bases científicas, aos participantes para mitigar e reparar a lesão ocasionada a esses contribuintes na coleta de material biológico. Além disso, essa atenção profissional e atendimento será gratuito. Os pesquisadores também informarão a instituição envolvida e o serviço/local de coleta dos dados e material biológico sobre a intercorrência e contribuirão impreterivelmente com medidas necessárias cabíveis à essa instituição hospitalar.

É importante ressaltar que existe a possibilidade de vazamento e quebra de sigilo dos dados coletados, pelos pesquisadores, nos prontuários dos participantes da pesquisa. Tais intercorrências podem ocorrer na coleta, processamento e armazenamento desses dados sigilosos. Os pesquisadores tomarão medidas cabíveis para minimizar a possibilidade desses riscos. Farão isso com o princípio de respeitar os preceitos éticos sigilosos das informações coletadas nos prontuários e com a prerrogativa de resguardar esse sigilo. Para isso, os pesquisadores respeitarão o anonimato dos participantes no decorrer da coleta dos dados, de modo que os participantes não serão identificados pelo nome no instrumento de coleta. Igualmente, o processamento e o armazenamento das informações serão realizados de forma cautelosa. Para isso, os dados serão manipulados e arquivados nas dependências dos laboratórios da Universidade Federal da Fronteira Sul de forma mais segura possível. Essa proteção será feita com a imposição de senhas para acessos a esses dados em computadores e garantir que somente pesquisadores desse projeto terão acesso a essas informações restritas.

Ademais, os dados coletados de forma física, em papel, serão armazenados em ambientes protegidos por chaves que permanecerão sobre os cuidados restritos dos pesquisadores. Os dados dos prontuários serão arquivados pela equipe de pesquisa e eliminados posteriormente ao tempo de guarda (5 anos). Os dados de arquivos digitais serão

padronizados no formato de planilhas e estarão dispostos em um sistema de “nuvem” o qual possuirá os dados de acesso “e-mail” e “senha” somente os responsáveis pela pesquisa, também serão acondicionados em um HD externo sob responsabilidade da pesquisadora principal, sendo que após o período de 5 anos o grupo de pesquisadores irão realizar a exclusão desses arquivos digitais como forma de descarte deste, com relação aos documentos físicos, os mesmos serão acondicionados em pastas de arquivos especificando a pesquisa e o tipo de material disposto nesta, os mesmos serão armazenados em armário com chave na Universidade Federal da Fronteira Sul sob responsabilidade da pesquisadora principal, os mesmos após o período de 5 anos serão fragmentados através de máquina específica e após realizado o descarte em lixo descartável.

Se o vazamento dos dados ocorrer, os pesquisadores tomarão todas as medidas legais cabíveis para resguardar o direito ao anonimato dos participantes e garantir a apuração legal de tal intercorrência, com a finalidade de evitar danos e resguardar os direitos dos envolvidos e participantes.

Ressaltasse que, caso algum dos riscos mencionados nesse termo se concretize, a instituição envolvida será informada sobre o ocorrido.

No final da pesquisa o grupo de estudo desenvolverá um relatório científico com todos os principais dados, resultados e conclusões deste trabalho. Tal descrição científica será entregue de forma presencial e eletrônica à Instituição hospitalar parceira de referência na cidade de Chapecó. Igualmente, será enviado um e-mail com a devolutiva dos resultados do estudo aos participantes da pesquisa. Ademais, é importante ressaltar que os resultados serão divulgados em eventos e/ou publicações científicas mantendo sigilo dos dados pessoais. Caso concorde em participar, uma via deste termo ficará em seu poder e a outra será entregue ao pesquisador. Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFFS nos endereços:

Número do CAAE: 65163722.0.0000.5564

Telefone: (049) 2049-3745 e/ou E-Mail: cep.uffs@uffs.edu.br

Universidade Federal da Fronteira Sul/UFFS - Comitê de Ética em Pesquisa da UFFS

Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul, Chapecó-SC – Brasil, CEP 89815-899

Desde já agradecemos sua participação!

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

Eu, _____ (Nome completo do(a) participante) autorizo a coleta do material biológico, o depósito, o armazenamento, a utilização e o descarte conforme especificado no presente do documento.

Data:_____.

E-mail para a devolutiva do relatório final da pesquisa ao participante:_____.

Assinatura do(a) participante

Assinatura do(a) pesquisador

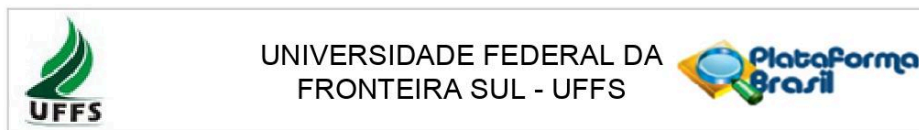
Em caso de dúvidas:

Telefone: (49) 998969097 e/ou E-Mail: debora.silva@uffs.edu.br.

Universidade Federal da Fronteira Sul/UFFS - Prof^a Dr^a Débora Tavares de Resende e Silva (pesquisadora responsável).

Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul, Chapecó-SC – Brasil, CEP 89815-899.

ANEXO II



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Neoplasias do sistema nervoso central: análise do sistema purinérgico e estresse oxidativo

Pesquisador: Débora Tavares de Resende e Silva

Área Temática:

Versão: 9

CAAE: 65163722.0.0000.5564

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.746.802

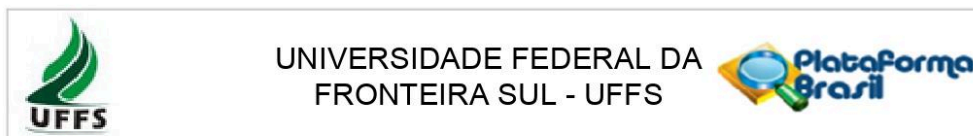
Apresentação do Projeto:

Trata-se de apresentação de emenda ao protocolo de pesquisa intitulado "Neoplasias do sistema nervoso central: análise do sistema purinérgico e estresse oxidativo", para o qual a pesquisadora responsável encaminhou a seguinte justificativa:

Justificativa da Emenda:

Justificativa para ampliação do cronograma: Diante do "Relatório Parcial de Pesquisa para o Comitê de Ética", descrito na parte 1 desse documento, o qual detalha o desenvolvimento do projeto, resalto que os tumores do Sistema Nervoso Central são classificados em vários tipos histológicos, os quais devem ser agrupados de acordo com a linhagem a que eles pertencem (tipos de tumores) para realização do estudo proposto no projeto. Igualmente, cada tipo de tumor agrupado exige análises separadas e específicas, ou seja, as análises devem ser pertinentes às especificidades de cada linhagem tumoral do grupo. Por

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural **CEP:** 89.815-899
UF: SC **Município:** CHAPECÓ
Telefone: (49)2049-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 6.746.802

suporte Plataforma Brasil das 08h às 20h, de segunda a sexta;

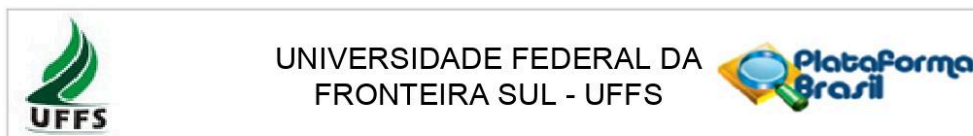
Contate a central de suporte da Plataforma Brasil, clicando no ícone no canto superior direito da página eletrônica da Plataforma Brasil. O atendimento é online.

Boa pesquisa!

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_2302863_E4.pdf	14/03/2024 08:03:16		Aceito
Cronograma	CRONOGRAMAAMPLIADO.pdf	14/03/2024 07:52:50	ADINEI ABADIO SOARES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetodePesquisa_NSNC_marco dois mil vinte quatro.pdf	14/03/2024 07:49:16	ADINEI ABADIO SOARES	Aceito
Outros	PedidodeEmendaaProtocolodePesquisa_reenviado.pdf	14/03/2024 07:43:57	ADINEI ABADIO SOARES	Aceito
Outros	cartaemendamarcodois milvintequatro.pdf	14/03/2024 07:39:45	ADINEI ABADIO SOARES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Emenda3_TCLE_relato_de_caso.pdf	03/02/2024 15:49:32	ADINEI ABADIO SOARES	Aceito
Outros	Emenda3_PEDIDO_DE_EMENDA_AO_PROTOCOLO_DE_PESQUISA.pdf	03/02/2024 15:48:52	ADINEI ABADIO SOARES	Aceito
Outros	Cartaderespostaaoparecernumero6537200.pdf	12/12/2023 08:43:27	ADINEI ABADIO SOARES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETONSNCCEP6537200.docx	12/12/2023 08:37:53	ADINEI ABADIO SOARES	Aceito
Outros	cartadeaceite.pdf	12/12/2023 08:35:23	ADINEI ABADIO SOARES	Aceito
Outros	EMENDACEPFLUORESCENCIA.pdf	31/10/2023 22:30:14	ADINEI ABADIO SOARES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEacessoprontuario.pdf	03/07/2023 11:12:15	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEajusteemenda.pdf	03/07/2023 11:10:44	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito

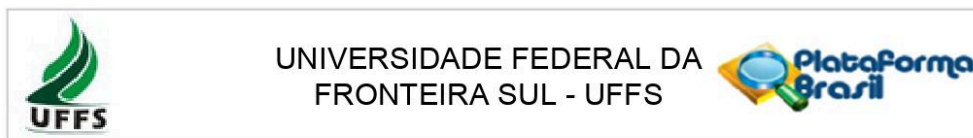
Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural **CEP:** 89.815-899
UF: SC **Município:** CHAPECO
Telefone: (49)2049-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 6.746.802

Outros	Cartaderespostaemenda.pdf	03/07/2023 11:10:13	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Outros	Deferimento.pdf	12/06/2023 10:46:45	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Outros	ProntuarioPacientesEmenda.pdf	12/06/2023 10:46:36	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Outros	TCLEUNIMEDemenda.pdf	12/06/2023 10:46:23	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Folha de Rosto	Folharostoatuizada.pdf	16/03/2023 19:57:06	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Outros	SEGUNDACARTEPENDENCIAS.pdf	16/03/2023 16:32:00	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Brochura Pesquisa	PROJETOPESQUISACORRIGIDO.pdf	16/03/2023 16:31:02	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tclepessoassaudaveiscorrigido.pdf	16/03/2023 16:19:58	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tclepacientescorrigido.pdf	16/03/2023 15:40:59	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Outros	Carta_pendencias.docx	02/01/2023 12:38:49	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA_CORRIGIDO.docx	02/01/2023 12:37:24	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Outros	declaracaodr_marcelo.pdf	02/01/2023 12:36:46	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Outros	INSTRUMENTO_DE_COLETA_DE_DADOS.docx	02/01/2023 12:31:58	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_Pesquisa_NSNC_corrigido.docx	02/01/2023 12:30:54	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Outros	TCLE_Pessoas_Saudaveis_Corrigido.docx	02/01/2023 12:28:59	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural **CEP:** 89.815-899
UF: SC **Município:** CHAPECO
Telefone: (49)2049-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 6.746.802

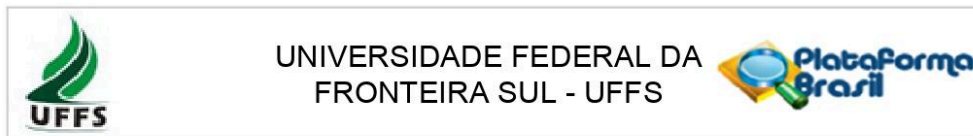
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Pacientes_corrigido.docx	02/01/2023 12:27:05	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Outros	Termo_de_Compromisso.pdf	02/01/2023 12:26:39	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Outros	Termo_de_Confidencialidade.pdf	02/01/2023 12:25:44	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Outros	declaracao_uffs.pdf	03/11/2022 10:30:55	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Outros	Declaracaodrmarcelo.pdf	01/11/2022 16:42:53	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Outros	declaracaoluanlucena.pdf	01/11/2022 16:42:00	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	aceite.pdf	01/11/2022 16:35:12	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Declaração de Pesquisadores	202209230802.pdf	01/11/2022 16:21:45	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	01/11/2022 16:20:08	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjPesquisa_NSNC2.pdf	01/11/2022 16:19:13	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Outros	TCLE_Pacientes.docx	01/11/2022 15:58:28	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	01/11/2022 15:56:54	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Controlo.docx	01/11/2022 15:28:11	ANGELA MAKELI KOSOSKI DALAGNOL	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural **CEP:** 89.815-899
UF: SC **Município:** CHAPECO
Telefone: (49)2049-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 6.746.802

Não

CHAPECO, 05 de Abril de 2024

Assinado por:
Renata dos Santos Rabello
(Coordenador(a))

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural **CEP:** 89.815-899
UF: SC **Município:** CHAPECO
Telefone: (49)2049-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br