



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

**ANDRÉ PAULO TURCATEL
SYMOM MARTINS**

**AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DE CD39, CD73 E PD-L1 NO TECIDO
TUMORAL DE PACIENTES COM TUMORES NEUROENDÓCRINOS
HIPOFISÁRIOS**

**CHAPECÓ
2026**

**ANDRÉ PAULO TURCATEL
SYMÓN MARTINS**

**AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DE CD39, CD73 E PD-L1 NO TECIDO
TUMORAL DE PACIENTES COM TUMORES NEUROENDÓCRINOS
HIPOFISÁRIOS**

Trabalho de Curso apresentado ao curso de
Medicina da Universidade Federal da Fronteira
Sul (UFFS), como requisito para obtenção do
título de Médico.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Débora Tavares de Resende e Silva

**CHAPECÓ
2026**

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Turcatel, André Paulo

Avaliação da expressão gênica de CD39, CD73 e PD-L1 no tecido tumoral de pacientes com tumores neuroendócrinos hipofisários / André Paulo Turcatel, Symon Martins. -- 2026.

62 f.:il.

Orientadora: Doutora Débora Tavares de Resende e Silva

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Bacharelado em Medicina, Chapecó, SC, 2026.

1. Tumor Neuroendócrino Hipofisário. 2. Microambiente Tumoral. 3. CD39 e CD73. 4. PD-L1. 5. Biomarcadores. I. Martins, Symon II. Silva, Débora Tavares de Resende e, orient. III. Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

ANDRÉ PAULO TURCATEL
SYMON MARTINS

**AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DE CD39, CD73 E PD-L1 NO TECIDO
TUMORAL DE PACIENTES COM TUMORES NEUROENDÓCRINOS
HIPOFISÁRIOS**

Trabalho de Curso apresentado ao curso de Medicina da Universidade Federal da
Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de Médico.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Débora Tavares de Resende e Silva

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 17/06/2026.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **DEBORA TAVARES DE RESENDE E SILVA**
Data: 18/06/2026 08:08:28-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Débora Tavares de Resende e Silva - UFFS
Orientadora

Documento assinado digitalmente
 **FRANCINI FRANCESCON**
Data: 18/06/2026 16:22:03-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Francine Francescon - UFSC
Avaliadora

Documento assinado digitalmente
 **JOAO VICTOR GARCIA DE SOUZA**
Data: 18/06/2026 08:14:49-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^o. Me. João Victor Garcia de Souza - UNICAMP
Avaliador

RESUMO

Os Tumores Neuroendócrinos Hipofisários (PitNETs), também conhecidos como adenomas hipofisários, embora majoritariamente benignos, podem apresentar comportamento agressivo e invasividade, dificultando o sucesso terapêutico. O microambiente tumoral (TME), através da via purinérgica (CD39 e CD73) e dos checkpoints imunológicos (PD-L1), desempenha um papel central no escape imune, mas esta dinâmica permanece pouco explorada nestas neoplasias. O objetivo dessa pesquisa foi avaliar a expressão gênica de CD39, CD73 e PD-L1 no tecido tumoral de pacientes com PitNETs e correlacioná-la com o grau de invasividade. Trata-se de um estudo quantitativo transversal e observacional, incluindo 19 pacientes da Região Sul do Brasil, submetidos à ressecção cirúrgica entre 23 de maio de 2023 a 08 de julho de 2025. A extensão tumoral foi classificada pela escala de Knosp revisada em baixo grau (0, 1 e 2) e alto grau (3 e 4) de invasão. A quantificação relativa da expressão gênica no TME foi realizada via qRT-PCR. Como resultados, encontrou-se expressão de CD73 significativamente maior no grupo de alto grau de invasão ($p = 0,0240$). A análise de correlação revelou associação positiva e significativa entre CD39 e CD73 ($r = 0,5542$; $p = 0,0170$). Conclui-se que o fenótipo invasivo dos PitNETs está fortemente associado à ativação coordenada da via purinérgica, impulsionada de forma independente do eixo PD-1/PD-L1. A ectonucleotidase CD73 mostra-se um potencial biomarcador de agressividade e um promissor alvo para imunoterapias nos PitNETs.

Palavras-chave: Tumor Neuroendócrino Hipofisário. Microambiente Tumoral. CD39 e CD73. PD-L1. Biomarcadores.

ABSTRACT

Pituitary neuroendocrine tumors (PitNETs), also known as pituitary adenomas, although predominantly benign, can exhibit aggressive behavior and invasiveness, hindering therapeutic success. The tumor microenvironment (TME), through the purinergic pathway (CD39 and CD73) and immune checkpoints (PD-L1), plays a pivotal role in immune escape; however, this dynamic remains underexplored in these neoplasms. The aim of this study was to evaluate the gene expression of CD39, CD73, and PD-L1 in the tumor tissue of patients with PitNETs and to correlate these expression levels with the degree of invasiveness. This is a quantitative, cross-sectional, observational study including 19 patients from Southern Brazil who underwent surgical resection between May 23, 2023 to July 8, 2025. Tumor extension was classified according to the revised Knosp grading system into low-grade (grades 0, 1 and 2) and high-grade (grades 3 and 4) invasion. Relative quantification of gene expression within the TME was performed using qRT-PCR. As results, a significantly higher expression of CD73 was found in the high-grade invasion group ($p = 0.0240$). Correlation analysis revealed a significant positive association between CD39 and CD73 ($r = 0.5542$; $p = 0.0170$). In conclusion, the invasive phenotype of PitNETs is strongly associated with the coordinated activation of the purinergic pathway, which appears to be driven independently of the PD-1/PD-L1 axis. The ectonucleotidase CD73 emerges as a potential biomarker for tumor aggressiveness and a promising therapeutic target for immunotherapy in PitNETs.

Keywords: Pituitary Neuroendocrine Tumor; Tumor Microenvironment; CD39 and CD73; PD-L1; Biomarkers.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Esquemas gráficos de RNM da hipófise e órgãos circundantes condizentes com extensão selar de tumor neuroendócrino hipofisário	22
Figura 2 - Representação da cascata das ectonucleotidases	27
Figura 3 - Representação do eixo PD-1/PD-L1 na interação entre célula tumoral adenohipofisária e célula T, onde agem os inibidores de checkpoint imunológicos	34
Figura 4 - Gráfico de dispersão representando os níveis relativos de expressão de mRNA do gene CD39 em tumores de baixo e alto grau, avaliados por qRT-PCR	46
Figura 5 - Gráfico de dispersão representando os níveis relativos de expressão de mRNA do gene CD73 em tumores de baixo e alto grau, avaliados por qRT-PCR	47
Figura 6 - Gráfico de dispersão representando os níveis relativos de expressão de mRNA do gene PD-L1 em tumores de baixo e alto grau, avaliados por qRT-PCR	48
Figura 7 - Teste de correlação entre a expressão gênica quantitativa de CD39 e CD73, e entre PD-L1 com CD73 no tecido de PitNETs	49

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 - Relação entre o grau Knosp e o achado radiológico	21
Quadro 2 - Primers usados na reação de amplificação de cDNA por qRT-PCR	39
Tabela 1 - Caracterização das Amostras Seleccionadas	43
Tabela 2 – Distribuição dos pacientes segundo o grau de invasão (escala de Knosp) e a extensão da ressecção cirúrgica do tumor	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A2AR	Receptor de Adenosina A2A
ACTH	Corticotrofina (Hormônio Adrenocorticotrófico)
ADA	Adenosina Deaminase
ADE	Adenina
ADO	Adenosina
ADP	Adenosina Difosfato
AMP	Adenosina Monofosfato
AMPc	Monofosfato Cíclico de Adenosina
ATP	Adenosina Trifosfato
CAFs	Fibroblastos Associados ao Tumor (Cancer-Associated Fibroblasts)
CD39	Ecto-nucleosídeo Trifosfato Difosfohidrolase-1
CD73	Ecto-5'-nucleotidase
cDNA	Ácido Desoxirribonucleico Complementar
FSCs	Células Folículo-Estreladas
FSH	Hormônio Folículo-Estimulante
GH	Hormônio do Crescimento (Growth Hormone)
HIF-1	Fator Induzível por Hipóxia 1
HRO	Hospital Regional do Oeste
ICIs	Inibidores de Checkpoint Imunológico
IFN- γ	Interferon-gama
KPS	Karnofsky Performance Status (Escala de Karnofsky)
LH	Hormônio Luteinizante
MDSCs	Células Supressoras Derivadas da Linhagem Mielóide
MEC	Matriz Extracelular
MHC-II	Complexo Principal de Histocompatibilidade classe II
MMP	Metaloproteinase de Matriz
NK	Natural Killer
OMS	Organização Mundial da Saúde
PD-1	Proteína de Morte Celular Programada 1
PD-L1	Ligante de Morte Celular Programada 1
PIT-1	Fator de Transcrição Hipofisário Específico 1

PitNETs Tumors)	Tumores Neuroendócrinos Hipofisários (Pituitary Neuroendocrine Tumors)
PKA	Proteína Quinase A
PRL	Prolactina
qRT-PCR Reversa	Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa via Transcrição Reversa
RNA	Ácido Ribonucleico
RNM	Ressonância Nuclear Magnética
SF-1	Fator Esteroidogênico-1
SNC	Sistema Nervoso Central
TAMs	Macrófagos Associados ao Tumor (Tumor-Associated Macrophages)
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TFs	Fatores de Transcrição
TGF- β	Fator de Crescimento Transformador β
TME	Microambiente Tumoral (Tumor Microenvironment)
TMZ	Temozolomida
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral α
T-PIT	Fator de Transcrição Hipofisária T-box
Tregs	Células T Reguladoras
TSH	Tireotrofina
UFFS	Universidade Federal da Fronteira Sul
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVOS.....	16
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	17
3.1 TUMORES NEUROENDÓCRINOS HIPOFISÁRIOS.....	17
3.2 O INFILTRADO IMUNE NOS TUMORES NEUROENDÓCRINOS HIPOFISÁRIOS.....	23
3.3 SISTEMA PURINÉRGICO NOS TUMORES.....	24
3.4 O EIXO DE CHECKPOINT IMUNE PD-1/PD-L1 NOS PITNETS.....	30
3.5 IMUNOTERAPIAS.....	31
4 METODOLOGIA.....	35
4.1 ASPECTOS ÉTICOS.....	35
4.2 DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	35
4.3 LOCAL DO ESTUDO.....	36
4.4 POPULAÇÃO E AMOSTRAGEM.....	36
4.5 OBTENÇÃO DE AMOSTRAS.....	37
4.6 TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS.....	38
4.7 PREPARO DAS AMOSTRAS E ANÁLISE VIA QRT-PCR.....	38
4.8 ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS.....	39
4.9 ARMAZENAMENTO DE DADOS E DEVOLUTIVA DOS RESULTADOS.....	40
5 RESULTADOS.....	42
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA.....	42
5.2 RESULTADOS DAS ANÁLISES.....	45
5.2.1 Resultados da quantificação da expressão de CD39.....	45
5.2.2 Resultados da quantificação da expressão de CD73.....	46
5.2.3 Resultados da quantificação da expressão de PD-L1.....	47
5.2.4 Resultado dos testes de correlação entre a expressão dos genes.....	48
6 DISCUSSÃO.....	50

7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	55
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	56
REFERÊNCIAS.....	57

1 INTRODUÇÃO

A hipófise, também chamada pituitária, é a principal glândula do sistema endócrino, localizada na sela túrcica do osso esfenóide, na base do crânio. A hipófise é formada por duas partes: o lobo anterior/adenohipófise e o lobo posterior/neuro-hipófise (Scott *et al.*, 2025). Da adenohipófise, formam-se os tumores neuroendócrinos hipofisários, do inglês *Pituitary Neuroendocrine Tumors* (PitNETs), também conhecidos como adenomas de hipófise. Os PitNETs são os tumores neuroendócrinos mais prevalentes, correspondendo ao segundo tumor intracraniano primário mais comum e representam entre de 10 a 20% das neoplasias intracranianas. Com uma prevalência estimada de 1 caso a cada 1.000 indivíduos na população geral, possuem grande relevância clínica (Villa *et al.*, 2024; Capatina *et al.*, 2024).

Embora benignos, os PitNETs podem exibir um comportamento agressivo, em até 35% dos casos (Terry *et al.*, 2024), em que os tumores causam significativa morbidade devido aos efeitos de massa, como cefaleias intensas e compressão dos nervos ópticos. Além disso, a hipersecreção hormonal exacerbada leva a síndromes endócrinas severas, como acromegalia e doença de Cushing (Chanson; Maiter, 2019; Osorio *et al.*, 2022). O manejo dessas condições complexas destaca a necessidade de esclarecer a compreensão dos mecanismos biológicos que orquestram a progressão tumoral e a resposta terapêutica (Chiloiro; Marinis, 2023).

Nesse contexto, o microambiente tumoral (TME) é um campo de investigação fundamental. O sistema purinérgico, uma via de comunicação celular mediada por nucleotídeos como a adenosina trifosfato (ATP) e nucleosídeos como a adenosina (ADO), emerge como um regulador crucial da biologia tumoral (Burnstock, 2018; Giuliani *et al.*, 2019). Enquanto a homeostase tecidual garante que os níveis de ATP extracelular permaneçam mínimos, a neoplasia apresenta um perfil oposto. No TME, a hipóxia, o estresse metabólico e a necrose induzem um efluxo maciço de ATP, o qual passa a atuar como um potente sinal pró-inflamatório (Giuliani *et al.*, 2019). A sinalização purinérgica subsequente, através dos receptores P1 e P2, modula processos vitais como proliferação celular, inflamação e a resposta imune (Virgilio; Adinolfi, 2016).

A intensidade e a natureza dessa sinalização são reguladas por uma cascata de enzimas de superfície celular denominadas ectonucleotidases. Dentre elas, a

CD39 (ecto-nucleosídeo trifosfato difosfohidrolase-1) e a CD73 (ecto-5'-nucleotidase) desempenham um papel central (Giuliani; Sarti; Di Virgilio, 2021). A enzima CD39 é responsável por iniciar a clivagem do ATP extracelular, convertendo-o primeiramente em adenosina difosfato (ADP) e, em seguida, em adenosina monofosfato (AMP), que por sua vez é convertido em ADO pela CD73 (Stefan; Bollen; Jansen, 2006; Giuliani; Sarti; Di Virgilio, 2021).

Este processo é fundamental, pois transforma um sinal imunoestimulante, o ATP, em um metabólito com potente ação imunossupressora, a ADO (Giuliani; Sarti; Di Virgilio, 2021). Como consequência, a ADO pode favorecer o crescimento tumoral e a resistência a algumas imunoterapias em pacientes oncológicos (Maj *et al.*, 2017). Assim, neutralizar essas enzimas pode inibir a progressão tumoral, evidenciando o papel da adenosina como um componente essencial do TME imunossupressor (Di Virgilio, 2012).

Em paralelo à sinalização purinérgica, a modulação de checkpoints imunológicos emerge como alvo de terapia para impedir o escape imune tumoral, com destaque para o eixo PD-1/PD-L1 (proteína de morte celular programada 1 e seu ligante). Tal via é responsável por manter a tolerância imunológica periférica e prevenir a autoimunidade, contudo, a expressão de PD-L1 é frequentemente alterada por diversas células neoplásicas. Ao interagir com a PD-1, presente na superfície de linfócitos T ativados, o PD-L1 tumoral desencadeia sinais inibitórios que induzem a disfunção e a apoptose destas células de defesa, consolidando a manutenção de um microambiente altamente imunossuprimido (Lin *et al.*, 2024).

No contexto dos PitNETs, a expressão de PD-L1 tem sido investigada como um potencial mediador de agressividade, embora a sua relação com o grau de invasão ainda apresente divergências na literatura (Krzentowska *et al.*, 2025a). Compreender o papel do PD-L1 nestas lesões torna-se particularmente relevante quando avaliado em conjunto com o eixo purinérgico (CD39 e CD73). Dessa maneira, como os tumores podem orquestrar múltiplas vias de evasão imunológica de forma independente ou sinérgica, a investigação simultânea do mecanismo clássico de checkpoint (PD-L1) e da via adenosinérgica permite uma visão integrativa das estratégias de sobrevivência destas neoplasias.

Assim, o estudo do sistema purinérgico e das vias de checkpoint imune no material biológico de pacientes diagnosticados com PitNETs mostra-se uma área promissora de investigação e ainda pouco abordada na literatura. Compreender os

mecanismos pelos quais esses tumores também podem adquirir características agressivas, incluindo a influência dos fatores abordados, é fundamental para o desenvolvimento de terapias pós-ressecionais mais eficazes, fármacos mais específicos, imunoterapias direcionadas e terapias combinatórias que potencializem a resposta imune antitumoral dos pacientes com PitNETs.

2 OBJETIVOS

Analisar por meio de qRT-PCR a expressão gênica de mRNA das ectonucleotidases de superfície celular CD39, CD73 e da proteína transmembrana PD-L1 no tecido tumoral de pacientes com tumores neuroendócrinos de hipófise, ressecados na região Sul do Brasil, entre 23 de maio de 2023 e 08 de julho de 2025.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar as amostras pelo sexo, idade, tamanho do tumor, nível de invasão das estruturas anatômicas circundantes e a presença concomitante de comorbidades (hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus tipo 2, entre outras);
- Analisar a expressão gênica de CD39, CD73 e PD-L1 no tecido tumoral de pacientes com tumores neuroendócrinos pituitários por qRT-PCR;
- Correlacionar os dados e resultados obtidos.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 TUMORES NEUROENDÓCRINOS HIPOFISÁRIOS

A adenohipófise deriva do ectoderma oral e tem origem epitelial, diferenciando-se em diversos tipos celulares endócrinos especializados sob ação conjunta de fatores de transcrição (TFs) gênica que definem a linhagem celular. Há três principais TFs: o fator de transcrição hipofisário específico 1 (PIT-1) diferencia as células em somatotrofos, lactotrofos, somatomamotrofos e tireotrofos; o fator de transcrição hipofisária T-box (T-PIT) forma adrenocorticotrófos; e o fator esteroideogênico-1 (SF-1), que gera os gonadotrófos (Scott *et al.*, 2025; Kidwell; Trippett; Aghi, 2026; Raventos *et al.*, 2026). As células adenohipofisárias secretam distintos hormônios de forma sistêmica, destacando-se os somatotrófos que secretam hormônio do crescimento (GH), lactotrófos a prolactina (PRL), tireotrófos liberam tireotrofina (TSH), adrenocorticotrófos a corticotrofina (ACTH) e gonadotrófos produzem hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulante (FSH) (Scott *et al.*, 2025).

Originários da porção anterior da pituitária, os PitNETs constituem o segundo tipo de neoplasias primárias mais comuns do sistema nervoso central (SNC). São descritos como benignos e correspondem por quase um quinto, cerca de 10 a 20%, de todas as massas intracranianas diagnosticadas na prática clínica (Drummond *et al.*, 2018; Kidwell; Trippett; Aghi, 2026). A dimensão epidemiológica destas lesões foi apresentada na 5ª edição da classificação da OMS (2022), que os categorizou definitivamente como as neoplasias neuroendócrinas mais prevalentes em humanos. Na população geral, estima-se que uma em cada mil pessoas tenham PitNET, refletindo uma prevalência que atinge até 116 casos por 100.000 habitantes e uma taxa de incidência anual que varia entre 3,9 e 7,4 casos a cada 100 mil indivíduos (Villa *et al.*, 2024; Capatina *et al.*, 2024).

Os PitNETs são neoplasias intracranianas muito heterogêneas, devido às distintas linhagens celulares que podem originar um tumor, além de apresentar riscos de recidiva e um potencial comportamento agressivo (Kidwell; Trippett; Aghi, 2026). O comportamento agressivo é descrito quando um tumor é radiologicamente

invasivo com taxa de crescimento elevada, apesar de terapias adequadas como cirurgia e radioterapia (Krzentowska *et al.*, 2025b). Esse comportamento agressivo dos PitNETs benignos não prevê que um tumor de hipófise se torne metastático/carcinoma hipofisário (Dagher *et al.*, 2026). Os carcinomas hipofisários possuem rara prevalência, com aproximadamente 1 caso a cada 1 milhão de pessoas (Raverot *et al.*, 2021). Ademais, PitNETs agressivos demonstram altos níveis séricos hormonais, invasão das estruturas anatómicas vizinhas, alta atividade proliferativa, rápido crescimento, pouca responsividade e/ou recidiva independentemente das terapias adotadas (Chiloiro; Marinis, 2023).

A classificação dos PitNETs por meio dos TFs permite distingui-los por subtipos tumorais e direcionar tratamentos, contudo, não é capaz de elucidar os padrões de comportamento e crescimento tumoral, como agressividade, resposta ao tratamento utilizado e o risco de recidiva (Kidwell; Trippett; Aghi, 2026). Dessa forma, novos e distintos métodos de estudar e classificar os tumores são fundamentais, que possam utilizar e relacionar diferentes dados dos pacientes, desde sintomatologias e sinais clínicos, achados radiológicos, patológicos e moleculares, além de alterações genéticas e bioquímicas que influenciam a tumorigênese (Kidwell; Trippett; Aghi, 2026).

Ao considerar a ampla diversidade de características clínicas, radiológicas e histopatológicas distintas, o uso do termo adenoma hipofisário não é capaz de refletir as nuances dos comportamentos variados desses tumores (Terry *et al.*, 2024). Também, a divisão em adenoma e carcinoma é considerada rudimentar, pois ignora os aspectos de invasão, recidiva, hipersecreção hormonal persistente, tumores não ressecáveis e refratários ao tratamento (Asa *et al.*, 2017).

Desse modo, a OMS, desde 2022, classifica os tumores adenohipofisários em PitNETs, o que abrange os tumores benignos de vários subtipos, além de tumores benignos com comportamento agressivo, que correspondem de 7 a 35% dos PitNETs benignos, os quais causam grande morbimortalidade. Os carcinomas hipofisários são renomeados para PitNETs metastáticos. Contudo, o termo adenoma hipofisário ainda é amplamente utilizado na literatura (Terry *et al.*, 2024).

O diagnóstico e a classificação dos tumores devem ser realizados ao considerar o quadro clínico, níveis hormonais séricos, achados de ressonância magnética (RNM) - que avalia tamanho tumoral e invasão do seio cavernoso - além de características histopatológicas (Krzentowska *et al.*, 2025b). Entre os métodos

histopatológicos apontados pela OMS para classificação de PitNETs, aponta-se o uso de imunohistoquímica (IHC) combinada com a avaliação de TFs para determinar a linhagem tumoral que formou o tumor, coloração hormonal para confirmar hipersecreção hormonal e auxiliar na diferenciação celular (Raventos *et al.*, 2026).

Alguns métodos auxiliares em ascensão na prática clínica são identificação de receptores de somatostatina e dopamina, índices de proliferação celular Ki-67, análise da presença de grânulos secretores centrais densos e imunocoloração de p53. Essas ferramentas complementam o diagnóstico por neuroimagem e ajudam a guiar o tratamento de escolha (Raventos *et al.*, 2026). Krzentowska *et al.* (2025b) apontam que investigar os TFs é útil nos PitNETs silenciosos, isto é, que não secretam hormônios em níveis significativos clinicamente.

O uso de neuroimagem, como RNM, revolucionou o rastreamento destas lesões. Atualmente, é frequente a detecção de massas hipofisárias de forma acidental durante a investigação de quadros neurológicos inespecíficos, como crises convulsivas, traumas cranioencefálicos, alterações visuais ou cefaleias idiopáticas (Daly; Beckers, 2020). Esses achados casuais constituem os chamados incidentalomas hipofisários, que representam uma parcela significativa dos diagnósticos (Giraldi; Allen; Ioachimescu, 2023).

As variantes funcionais destas neoplasias provocam síndromes sistêmicas severas decorrentes da produção hormonal exacerbada. Nesses quadros, os pacientes frequentemente desenvolvem condições como hipogonadismo, galactorreia, doença de Cushing ou acromegalia, dependendo da linhagem celular afetada (Osorio *et al.*, 2022). Nesse âmbito, Tritos e Miller (2023) apontam que cerca de 68,4% dos pacientes com PitNETs são do sexo feminino, 47,8% dos pacientes têm macroadenomas, e os tumores secretores de gonadotrofinas representam aproximadamente 53% dos adenomas hipofisários clinicamente importantes (Tritos; Miller, 2023; Martins *et al.*, 2025).

A investigação da morfologia por meio do diâmetro máximo da lesão norteia sua classificação radiológica. Neoplasias menores que 1 cm são categorizadas como microadenomas e, em sua maioria, comportam-se como microincidentalomas assintomáticos e sem progressão de tamanho. Em contrapartida, lesões superiores a 1 cm, os macroadenomas, possuem maior tendência de expansão e manifestação sintomática, especialmente cefaleias e alterações visuais (Daly; Beckers, 2020). No extremo deste espectro estão os adenomas gigantes, que ultrapassam 4 cm, em que

nota-se um padrão de crescimento indolente e não secretores, com prevalência maior no sexo masculino, impõem grave morbidade. O principal mecanismo de dano dos adenomas gigantes é a compressão mecânica de estruturas extrasselares, resultando primariamente em perdas de acuidade e de campo visual, além de quadros de cefaleia, falência funcional (hipopituitarismo) ou desregulação endócrina (Iglesias; Berrocal; Díez, 2018).

Embora a maioria dos PitNETs apresente um crescimento contido nos limites anatômicos da sela túrcica (Carneiro; Mendes; Bastos, 2015), o fenótipo invasivo representa um desafio clínico. A progressão tumoral pode atingir partes ósseas, como o esfenoide, e avançar para compartimentos meníngeos e até mesmo para o parênquima cerebral. Essa expansão extrasselar, observada em até 40% das abordagens cirúrgicas, está diretamente associada a desfechos clínicos desfavoráveis. O acometimento do seio cavernoso, por exemplo, impossibilita a exérese total da lesão, o que aumenta substancialmente as taxas de recidiva e impulsiona a morbimortalidade desses pacientes (Villa *et al.*, 2024).

No ano de 1993, Knosp e associados propuseram um método de classificação da invasão do seio cavernoso observada por meio de RNM, a qual passou a ser amplamente utilizada na avaliação cirúrgica dos pacientes com PitNETs (Araujo-Castro *et al.*, 2022). O uso de neuroimagem associado a classificação de Knosp para avaliação da invasividade dos PitNETs permite complementar a classificação que antes era realizada apenas por microscopia (Micko *et al.*, 2015).

A avaliação da extensão parasselar dos PitNETs pela classificação de Knosp é realizada com base em estruturas de referência obtidas pelos cortes coronais de RNM. Nessa análise, três linhas são traçadas em relação às secções transversais das artérias carótidas internas intracavernosas e supracavernosas: uma tangente medial, uma linha intercarotídea que conecta os centros das secções transversais e uma tangente lateral (Micko *et al.*, 2015). Os graus de classificação Knosp para avaliação de invasão do seio cavernoso variam de 0 a 4, como demonstrado no Quadro 1 e na Figura 1. Atualmente, utiliza-se a Classificação de Knosp Revisada, que inclui 2 subtipos de grau 3 (Araujo-Castro *et al.*, 2022). Com o aumento do grau tumoral, a invasão do seio cavernoso pode aumentar proporcionalmente, mas a possibilidade de ressecção total do tumor tende a diminuir. Micko *et al.* (2015) apontam que a invasão do assoalho selar ocorre entre 46 e 85% dos casos.

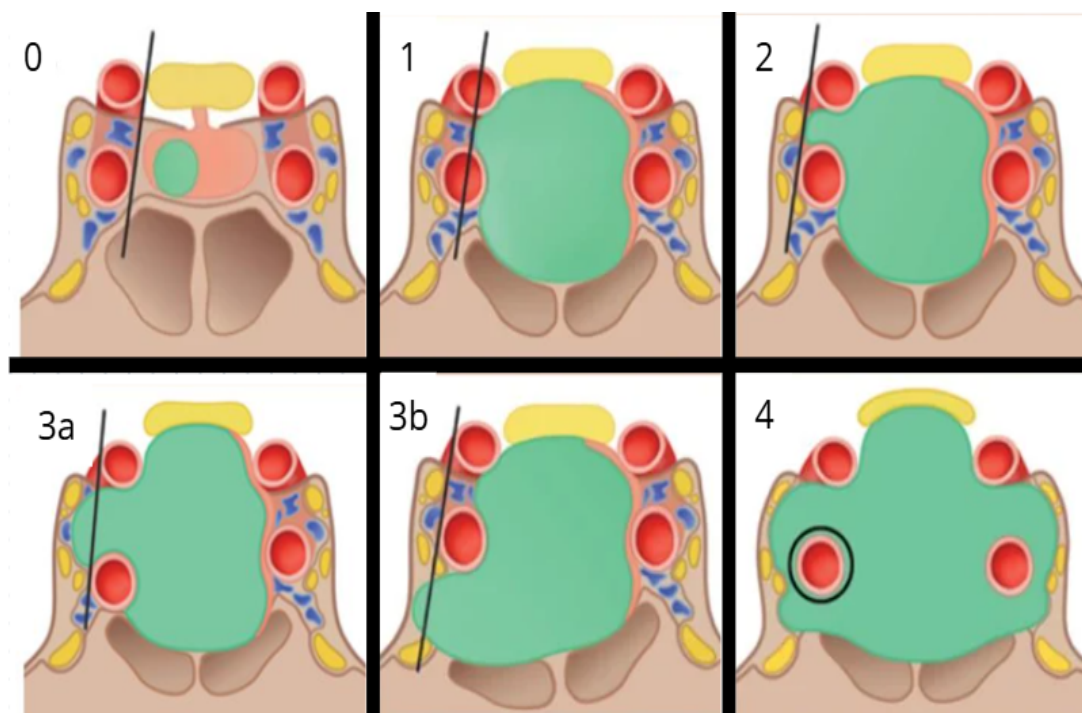
Quadro 1 - Relação entre o grau Knosp e o achado radiológico.

Classificação Knosp Revisada	Interpretação
0	O tumor permanece restrito, sem ultrapassar a tangente medial das artérias carótidas internas intracavernosas e supracavernosas.
1	O tumor ultrapassa a tangente medial mas permanece limitado pela linha intercarotídea.
2	O tumor se estende além da linha intercarotídea, sem ultrapassar a tangente lateral das carótidas internas.
3	O tumor ultrapassa a tangente lateral das carótidas internas, caracterizando invasão cavernosa.
3a	O tumor ultrapassa a tangente lateral das carótidas internas invadindo o compartimento superior do seio cavernoso.
3b	O tumor ultrapassa a tangente lateral das carótidas internas invadindo o compartimento inferior do seio cavernoso.
4	Há envolvimento completo da artéria carótida interna intracavernosa pelo tumor.

Fonte: Elaborado pelos autores (2026).

Krzentowska *et al.* (2025b) classificaram os tumores com grau Knosp 1 e 2 como não invasivos, enquanto os graus 3 e 4 foram considerados invasivos. Neste estudo, adotou-se abordagem semelhante, agrupando os tumores de grau Knosp 1 e 2 como “Baixo Grau” e os de grau Knosp 3 e 4 como “Alto Grau”, em consonância com a proposta de Krzentowska e colaboradores. Também, incluiu-se o grau 0 nos tumores de baixo grau.

Figura 1 - Esquemas gráficos de RNM da hipófise e órgãos circundantes condizentes com extensão selar de tumor neuroendócrino hipofisário.



Fonte: Adaptado de Micko *et al.* (2015).

Nota: A imagem ilustra a progressão da invasão lateral do tumor (verde) em direção ao seio cavernoso, utilizando as artérias carótidas internas (vermelho) como referências anatômicas. No grau 0, o tumor é restrito à sela túrcica. Nos graus 1 e 2, o tumor cruza a linha medial ou intercarotídea, mas permanece contido medialmente à tangente lateral. No grau 3 (a e b), há invasão dos compartimentos superior e inferior do seio cavernoso, ultrapassando a tangente lateral. No grau 4, ocorre o envolvimento total da artéria carótida. Para fins de análise neste estudo, os graus de 0 a 2 representam tumores de "Baixo Grau" e os graus 3 e 4 representam tumores de "Alto Grau" de invasão.

O manejo dos PitNETs é complexo e deve considerar os fatores clínicos e biológicos, não havendo um protocolo único aplicável a todos os pacientes. A terapia é guiada pelo subtipo tumoral e sintomas clínicos associados à hipersecreção hormonal, a presença ou não de sintomas de massa, o risco de recidiva, presença ou ausência de comportamento agressivo (Raventos *et al.*, 2026). Contudo, para a maioria dos PitNETs, a primeira linha de tratamento é a cirurgia de ressecção via endonasal (Shih *et al.*, 2026), especialmente para os clinicamente relevantes. Com exceção dos tumores secretores de PRL, em que a terapia padrão-ouro é o uso de agonistas de dopamina. Mesmo assim, em casos refratários ao tratamento inicial, deve-se optar pela ressecção cirúrgica (Derwich-Rudowicz *et al.*, 2025).

A radioterapia é reservada para tumores residuais, recidivantes e casos inoperáveis (Derwich-Rudowicz *et al.*, 2025). Os casos refratários também podem ser manejados com temozolomida (TMZ), entretanto, cerca de um terço dos pacientes não é responsivo à medicação (Cossu *et al.*, 2023). Por isso, ainda são necessários sistemas de classificação preditivos, não apenas descritivos, que possam integrar sintomas, características histopatológicas e moleculares. Isso possibilitaria quantificar riscos e prever comportamento tumoral, garantindo a escolha da conduta terapêutica mais assertiva e personalizada para cada paciente (Raventos *et al.*, 2026).

3.2 O INFILTRADO IMUNE NOS TUMORES NEUROENDÓCRINOS HIPOFISÁRIOS

Nos PitNETs, o infiltrado imune compõe uma parcela significativa da massa tumoral e tem se revelado um determinante crucial para o comportamento biológico, a invasividade e a resposta terapêutica dessas neoplasias. Diferentemente do tecido hipofisário normal, o cenário imunológico dos PitNETs sofre remodelação ativa através da secreção de citocinas e quimiocinas pelas próprias células tumorais, o que atrai e sequestra leucócitos da periferia para o interior do tumor, subvertendo suas funções para favorecer o escape imune (Marques *et al.*, 2019; Marques; Grossman; Korbonits, 2020).

Dentre as populações leucocitárias, os macrófagos associados ao tumor (TAMs) constituem a célula imune mais abundante nos PitNETs. Investigações imuno-histoquímicas e análises recentes de transcriptômica e de sequenciamento de RNA de célula única (scRNA-seq) demonstram que esses macrófagos adotam predominantemente o fenótipo M2 (CD163+), associado à imunossupressão e reparo tecidual, em detrimento do fenótipo M1 (HLA-DR+) pró-inflamatório (Marques *et al.*, 2019; Vela-Patiño *et al.*, 2024). Essa polarização para M2 correlaciona-se clinicamente com características de maior agressividade tumoral, como o aumento da densidade microvascular, maior taxa de proliferação celular e invasão do seio cavernoso (Marques; Grossman; Korbonits, 2020). Além disso, as subpopulações de TAMs apresentam assinaturas transcricionais distintas que variam de acordo com a linhagem do PitNET (PIT-1, TPIT ou SF1), sugerindo que interações específicas

entre o macrófago e a célula tumoral guiam a evolução do microambiente (Lin *et al.*, 2024).

Além do compartimento mieloide, os PitNETs são infiltrados por linfócitos, notadamente células T CD4⁺ e CD8⁺, cuja funcionalidade é frequentemente comprometida. A agressividade tumoral nos PitNETs não é ditada apenas pela quantidade absoluta de células T, mas pelo desbalanço em suas subpopulações. Demonstrou-se que tumores com índices proliferativos mais altos exibem uma proporção significativamente menor de linfócitos T citotóxicos (CD8⁺) em relação aos linfócitos T helper (CD4⁺) e às células T reguladoras (Tregs) (Marques *et al.*, 2019). Corroborando esses achados, análises em nível de célula única revelaram que os linfócitos T presentes nos PitNETs frequentemente exibem fortes assinaturas de exaustão e de resposta ao estresse oxidativo, indicando um estado de disfunção metabólica que impede a rejeição imunológica do tumor (Yan *et al.*, 2024).

É neste cenário de exaustão linfocitária e dominância de macrófagos M2 que o sistema purinérgico exerce seu papel. No contexto da biologia tumoral geral, sabe-se que essas populações celulares caracterizam-se por expressar constitutivamente altos níveis das ectonucleotidases CD39 e CD73. Ao se estabelecerem no TME, essas células sequestram o ATP extracelular e o convertem rapidamente em adenosina (Roh *et al.*, 2020; Sun *et al.*, 2022). Esse acúmulo de adenosina atua de forma parácrina nos receptores A2A dos linfócitos T CD8⁺ e células *Natural Killer* (NK) recém-recrutados, inibindo sua função efetora e perpetuando o ciclo de imunossupressão (Xia *et al.*, 2023; Lin *et al.*, 2024). Portanto, a composição do infiltrado imune nos PitNETs fornece o substrato celular teórico ideal para a hiperativação da via CD39/CD73, justificando a investigação destas enzimas como biomarcadores de agressividade tumoral.

3.3 SISTEMA PURINÉRGICO NOS TUMORES

Na oncologia moderna, compreende-se que a progressão neoplásica não depende exclusivamente das células tumorais, mas de uma intrincada rede de interações denominada TME. O TME é um ecossistema complexo constituído pelas próprias células malignas, estroma de suporte, vasos sanguíneos e um diversificado infiltrado imune (Shen *et al.*, 2024). O sucesso da resposta antitumoral ou a

ocorrência de escape imune dependem profundamente da sinalização bioquímica que ocorre neste espaço extracelular, onde metabólitos locais ditam o comportamento celular e a resistência a terapias sistêmicas (Roh *et al.*, 2020; Huang *et al.*, 2024).

A rede de sinalização purinérgica baseia-se na ação de nucleosídeos (como a adenosina e a adenina) e de nucleotídeos (como o ATP) atuando no ambiente extracelular. Em tecidos saudáveis, a presença dessas moléculas fora da membrana plasmática é mínima, no entanto, o microambiente tumoral é frequentemente marcado por uma liberação maciça de ATP decorrente de lise ou estresse celular. Esse efluxo agudo transforma o ATP em um potente sinal de perigo local (Giuliani *et al.*, 2019). A exportação dessas moléculas para o meio extracelular pode ocorrer via exocitose vesicular, lisossomos ou através de canais especializados de membrana, como as conexinas/panexinas e o receptor P2X7 (Antonioli *et al.*, 2013).

Do ponto de vista estrutural e funcional, os receptores purinérgicos dividem-se conforme a sua afinidade por ligantes específicos e vias de transdução de sinal. Os receptores que respondem a nucleosídeos englobam as famílias P0 (que possuem afinidade pela adenina) e P1 (específicos para a adenosina). Ambas as classes compartilham o mecanismo de sinalização metabotrópica, operando exclusivamente por meio do acoplamento a diferentes proteínas G, sejam elas inibitórias (Gi) ou estimulatórias (Gs) (Fredholm *et al.*, 2001; Borrmann *et al.*, 2009). Em paralelo, o grupo de receptores P2 subdivide-se funcionalmente: os canais de íons P2X, compostos por sete subtipos (1 a 7), e a classe metabotrópica P2Y acoplada à proteína G, que abrange múltiplos subtipos (1 a 14) ativados por nucleotídeos extracelulares (Burnstock, 2018). Praticamente todas as linhagens celulares expressam algum repertório desses receptores, permitindo respostas dinâmicas de inflamação e sobrevivência (Verkhatsky *et al.*, 2014).

Os diferentes elementos desse sistema de sinalização contribuem para a constituição de uma rede de sinalização imunomoduladora no TME. Os receptores da família P1 são elementos que favorecem o ambiente imunossupressor, pela modulação da inflamação tecidual local. O TME é profundamente influenciado pelas concentrações de ATP e pelo estado de estresse oxidativo local. Essa modulação ocorre de maneira dual, dependendo diretamente da classe de receptor purinérgico acionada. De um lado, a sinalização via receptores da família P1 consolida um perfil celular tolerogênico e imunossupressor; em contraste, a estimulação da família P2

provoca uma gama de respostas pleiotrópicas, que variam da indução de intensas cascatas inflamatórias e a proliferação até vias de morte celular. Consequentemente, o balanço da sinalização purinérgica dita se o TME adotará um comportamento de estímulo à imunidade antitumoral ou de suporte à progressão neoplásica (Virgilio; Adinolfi, 2016).

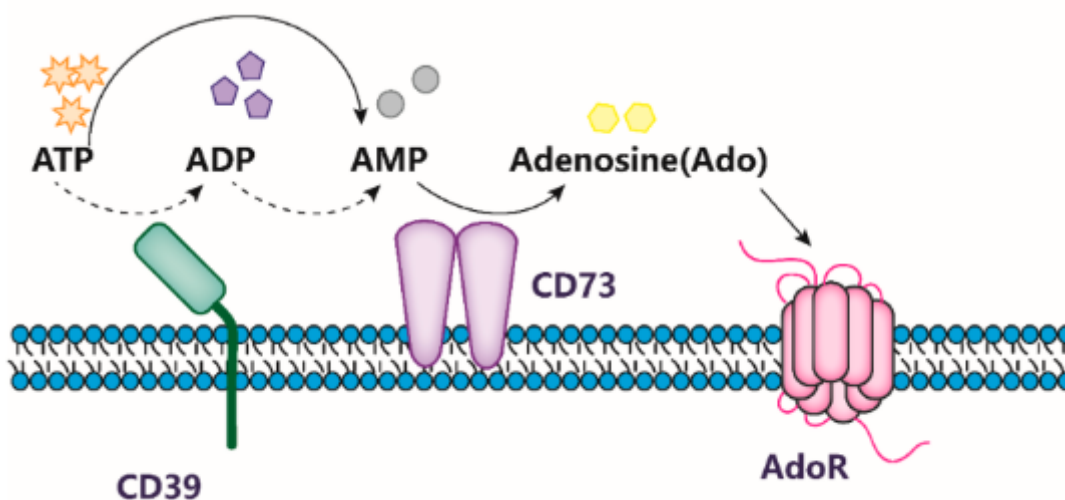
A modulação dessa complexa rede de sinais é orquestrada pelas ectonucleotidases, proteínas de membrana encarregadas de clivar o ATP e gerar metabólitos com funções imunológicas opostas. Nesse processo, a degradação do ATP em ADP e, posteriormente, em AMP é catalisada sobretudo pela enzima CD39, embora as pirofosfatases/fosfodiesterases (NPPs) também possam atuar de forma paralela. Adicionalmente, o catabolismo do NAD⁺ pela via da enzima CD38 serve como uma fonte alternativa de AMP. Contudo, a etapa final e irreversível dessa cascata corresponde à conversão do AMP em ADO, reação mediada exclusivamente pela CD73. Deste modo, o eixo CD39/CD73 atua como o mecanismo regulador primário do TME, esgotando o ATP pró-inflamatório extracelular e inundando o meio com nucleosídeos de ação imunossupressora (Stefan; Bollen; Jansen, 2006; Giuliani; Sarti; Di Virgilio, 2021). Como mostrado na Figura 2, no TME, a cascata CD39/CD73 é a principal responsável pela hidrólise de ATP em ADO, e é essencial na interação entre tumor e células imunes (Giuliani; Sarti; Di Virgilio, 2021).

A enzima CD39 é uma glicoproteína integral de membrana responsável por fosfo-hidrolisar o ATP em AMP, em um processo dependente de íons cálcio (Ca²⁺) e magnésio (Mg²⁺) (Antonioli *et al.*, 2013). Essa enzima é constituída por 510 aminoácidos, com peso molecular entre 70 e 100 kDa. Estruturalmente, a CD39 possui dois domínios transmembrana, que são situados nas extremidades N e C-terminal, um pequeno domínio citoplasmático e um amplo domínio hidrofóbico extracelular (Antonioli *et al.*, 2013; Shen *et al.*, 2025). Este domínio extracelular possui cinco regiões conservadas de apirase (ACR 1-5), que são essenciais para a atividade catabólica da enzima (Antonioli *et al.*, 2013). Além disso, a enzima possui sete sítios potenciais de N-glicosilação, que são cruciais para o dobramento correto da proteína, direcionamento para a membrana e integridade funcional (Shen *et al.*, 2025).

A segunda etapa do catabolismo dos nucleotídeos purinérgicos é executada pela CD73, que atua desfosforilando o AMP extracelular em ADO (Antonioli *et al.*, 2013). A CD73 é composta por 548 aminoácidos (~70 kDa) e se apresenta na forma

de um homodímero não covalente. Diferente da CD39, a CD73 não possui segmentos proteicos transmembrana, ela se fixa à membrana plasmática através de uma âncora de glicosilfosfatidilinositol (GPI) ligada a um resíduo de serina (Ser 523) em sua porção C-terminal (Antonioli *et al.*, 2013; Shen *et al.*, 2025). O domínio N-terminal coordena a ligação de dois íons metálicos (Zn^{2+} e Co^{2+}) e é essencial para a atividade fosfo-hidrolase (Shen *et al.*, 2025). Um aspecto regulatório de alta importância é que tanto o ATP quanto o ADP atuam como inibidores competitivos da CD73, o que garante que a produção de ADO ocorra apenas após o esgotamento do ATP extracelular pela CD39 (Antonioli *et al.*, 2013).

Figura 2 - Representação da cascata das ectonucleotidases.



Fonte: Adaptado de Hu *et al.* (2023).

Além de sua clássica expressão nas populações imunes infiltrantes, as enzimas CD39 e CD73 desempenham um papel intrínseco e direto na biologia das próprias células tumorais e do estroma de suporte, como os fibroblastos associados ao tumor (CAFs). A superexpressão dessas ectonucleotidases pelas células malignas estimula vias de sinalização que promovem proliferação celular, transição epitélio-mesenquimal (EMT) e angiogênese tumoral (Roh *et al.*, 2020; Shen *et al.*, 2024). Somado a isso, células tumorais são capazes de secretar ativamente vesículas extracelulares e exossomos contendo altas concentrações de CD39 e CD73. Essas formas solúveis e exossomais circulam sistemicamente e no TME, ampliando o raio de imunossupressão para além do leito tumoral primário. Esse mecanismo tem sido associado a piores prognósticos e à resistência a inibidores de

checkpoint imunológico (ICIs), como as terapias anti-PD-1 e anti-PD-L1, evidenciando a versatilidade do eixo CD39/CD73 na orquestração do escape imune (Roh *et al.*, 2020; Huang *et al.*, 2024).

Fisiologicamente, CD39 e a CD73 são expressas constitutivamente em diversos tecidos (como cérebro, rins e pulmões) e estão intrinsecamente associadas a células endoteliais e populações de células imunes, incluindo linfócitos B, neutrófilos, macrófagos e células Tregs (Antonioli *et al.*, 2013).

No entanto, no contexto de patologias e neoplasias, a expressão dessas ectonucleotidases é fortemente modulada pelas condições do microambiente. Fatores como estresse oxidativo, hipóxia tecidual crônica e citocinas pró-inflamatórias (incluindo TGF- β , TNF- α e IFNs) promovem a regulação positiva da expressão de CD39 e CD73 por meio da ativação de fatores de transcrição como Sp1 e Stat3. Consequentemente, o aumento da expressão dessas enzimas tem sido amplamente documentado em diversos tumores sólidos, sugerindo um papel central desta via de degradação na tumorigênese, progressão da doença e supressão da resposta imune antitumoral (Antonioli *et al.*, 2013).

A principal consequência da hiperatividade do eixo CD39/CD73 no TME é a reconfiguração imunológica que culmina no fenômeno de escape imune. Ao ser gerada, a adenosina atua de forma parácrina e autócrina ligando-se predominantemente aos receptores purinérgicos, com destaque para o receptor A2A (A2AR), amplamente expresso na superfície de células imunes infiltrantes (Sun *et al.*, 2022). A ativação do A2AR, que é acoplado à proteína Gs, desencadeia o acúmulo intracelular de AMPc e a consequente ativação da Proteína Quinase A (PKA). Nas células efetoras antitumorais, como os linfócitos T citotóxicos (CD8+) e as células NK, essa via sinalizadora exerce um bloqueio profundo. A sinalização A2AR/PKA suprime diretamente a ativação do complexo mTORC1, prejudicando o metabolismo celular e a produção de citocinas inflamatórias essenciais, como o interferon-gama (IFN- γ) (Mastelic-Gavillet *et al.*, 2019).

Além de suprimir a função das células efetoras, a via adenosinérgica afeta de forma complexa a biologia dos linfócitos T CD8+. Curiosamente, a inativação da sinalização do A2AR, embora restaure a atividade efetora dessas células, altera a homeostase da glutatona e suprime a atividade da GPX4, deixando os linfócitos T CD8+ vulneráveis à morte por ferroptose resultante da peroxidação lipídica. Isso indica que intervenções visando o eixo da adenosina podem exigir abordagens

combinadas para preservar a sobrevivência destas células no TME (Chen *et al.*, 2024).

Em paralelo à ação sobre as células efectoras, o acúmulo de adenosina atua ativamente no recrutamento e na estabilização de populações celulares com perfil imunossupressor e pró-tumoral. A sinalização via receptores A2AR e A2BR induz a polarização de macrófagos associados ao tumor (TAMs) para o fenótipo M2 e promove o acúmulo de células supressoras derivadas da linhagem mielóide (MDSCs), que auxiliam na angiogênese e na evasão imune (Roh *et al.*, 2020; Sun *et al.*, 2022). Notavelmente, a sinalização purinérgica também estimula a expansão de Tregs. De forma sinérgica, as Tregs coexpressam ambas as ectonucleotidases em níveis elevados na sua membrana, o que mantém um ciclo de retroalimentação positiva: ao migrarem para o tumor, produzem ainda mais adenosina, aprofundando a tolerância imunológica local (Roh *et al.*, 2020).

Inversamente, estudos demonstram que o bloqueio farmacológico ou genético da CD73 é capaz de reverter esse quadro, repolarizando macrófagos para um fenótipo inflamatório e apresentador de antígenos (MHC-II), o que restaura a comunicação com as células T CD4+ e CD8+ (Murphy *et al.*, 2026; Chen *et al.*, 2020). Dessa forma, a enzima CD73 orchestra uma reprogramação completa do microambiente, justificando sua investigação como um marcador de agressividade e potencial alvo terapêutico em neoplasias sólidas.

Nesse contexto, embora seja uma via relevante no funcionamento da fisiologia hipofisária, as alterações da sinalização purinérgica permanecem um tópico pouco explorado no contexto dos PitNETs. Estudos utilizando a linhagem de adenoma hipofisário GH4 evidenciaram que a adenosina exerce uma função reguladora crucial sobre os canais de cálcio dependentes de voltagem (tipo L) nessas células neoplásicas (Burnstock, 2014). O impacto direto do efluxo de nucleotídeos na agressividade dos PitNETs foi elucidado por , que trabalhou com a Panexina 1, um canal de membrana que facilita a exportação de ATP. O grupo observou que os tumores com fenótipo mais invasivo apresentam forte aumento da expressão de Panexina 1 (Yin *et al.*, 2025).

O consequente acúmulo de ATP no meio extracelular permite a estimulação autócrina dos receptores P2X7 nas próprias células neoplásicas, deflagrando a entrada maciça de cálcio. Esse evento intracelular funcionou como gatilho para a liberação de metaloproteinases de matriz, principalmente a MMP2 e MMP9,

culminando na reorganização citoesquelética e na facilitação da invasão (Yin *et al.*, 2025). No cenário neurocirúrgico, a hiperatividade dessas collagenases (MMP9) traduz-se clinicamente em invasão do seio cavernoso, rica vascularização local e recidivas frequentes (Marques; Grossman; Korbonits, 2020).

Diante dessas evidências, é notório que o efluxo de ATP desempenha um papel na invasividade local dos PitNETs. Contudo, conforme amplamente descrito em outros modelos tumorais, o excesso de ATP no TME precisa ser rigorosamente regulado pelas ectonucleotidases para evitar a sinalização inflamatória excessiva e suprimir a resposta imune antitumoral (Giuliani; Sarti; Di Virgilio, 2021). Assim, a super-regulação da cascata CD39/CD73 emerge como o mecanismo lógico pelo qual os PitNETs converteriam esse ATP em adenosina, garantindo seu escape imune. No entanto, o perfil de expressão e a atividade funcional da CD39 e CD73 no tecido de pacientes com PitNETs permanecem como uma importante lacuna científica. Diante disso, a investigação destas enzimas em amostras tumorais torna-se fundamental para compreender como os adenomas de hipófise subvertem a sinalização purinérgica para garantir sua progressão e escape imune.

3.4 O EIXO DE CHECKPOINT IMUNE PD-1/PD-L1 NOS PITNETS

Os mecanismos de evasão imune mediados por moléculas do eixo PD-1/PD-L1, estão envolvidos na modulação do TME, com isso, favorecem a progressão tumoral (Krzentowska *et al.*, 2025a). A PD-1 é uma proteína transmembrana expressa na superfície de células T ativadas, células B, monócitos e outras células do sistema imune, já o PD-L1 é expresso em células que apresentam antígenos. A interação PD-1/PD-L1 é um dos principais mecanismos de checkpoints imunológicos, pois induz inibição dos linfócitos T, mantém tolerância imunológica, previne a autoimunidade e quando expressa em células neoplásicas, permite a evasão imune em um TME imunossupressor (Lin *et al.*, 2024).

O PD-L1 está presente na maioria das células do corpo humano, contudo, células tumorais demonstram expressão aumentada, como já descrito em cânceres de mama, pulmão, glioma, melanoma e outros. Desse modo, quando o PD-L1 das células neoplásicas liga-se com a PD-1 presente nos linfócitos infiltrados, a supressão é induzida. Os sinais inibitórios causam disfunção e apoptose nos

linfócitos T e induz a tolerância imunológica nas Tregs, o que permite a fuga imune das neoplasias. A via é capaz de promover a geração de Tregs e aumentar sua ação no TME, essas células, ao produzir citocinas pró-inflamatórias, como ADO e TGF- β , contribuem para a manutenção de um microambiente inflamatório, autoimunidade supressa e escape imune tumoral (Lin *et al.*, 2024). Ao influenciar o eixo PD-1/PD-L1, os tumores promovem a polarização de TAMs ao fenótipo M2, que liberam fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), TNF- α , fator de crescimento fibroblástico e citocinas que promovem a angiogênese, auxiliam a imunossupressão e favorecem o crescimento tumoral (Lin *et al.*, 2024).

Cossu e colaboradores (2023) apontam que a expressão de PD-L1 em PitNETs é variável, corroborando com os achados de Krzentowska *et al.* (2025a), que descreveram que a presença de PD-L1 em PitNETs sugere sua potencial sensibilidade a imunoterapias. Os PitNETs lactotróficos, plurihormonais somatotróficos e PIT-1 positivos têm maior expressão de PD-L1, em contraste com corticotróficos, gonadotróficos e tumores de células nulas que apresentam expressão reduzida do ligante, o que sugere que a expressão pode ser influenciada pela linhagem celular e TFs de origem. Também, não encontraram significância estatística na avaliação de PD-L1 com a invasividade tumoral, mas sim uma tendência a esta associação (Krzentowska *et al.*, 2025a). Semelhantemente, Guo *et al.* (2025) encontraram acúmulo de marcadores imunossupressores em PitNETs funcionais.

A associação entre a expressão de PD-L1 e a invasão do seio cavernoso ainda é discutida. Salienta-se que Cossu e sua equipe (2023) não encontraram associação entre o grau Knosp, invasão tumoral e invasão do seio cavernoso com o nível de expressão de PD-L1 nos 86 pacientes analisados em seu estudo. Também, os autores sugerem que PitNETs primários têm maior expressão de PD-L1 do que os casos recidivantes. Com isso, apontam a necessidade de desenvolver marcadores mais precisos para avaliar o uso de imunoterapias.

3.5 IMUNOTERAPIAS

As imunoterapias são tratamentos usados na oncologia, como adjuvantes, monoterapias e/ou combinação com outros medicamentos, em alguns tipos de câncer e podem substituir quimioterapia e radioterapia. Elas demonstram grande

ação contra tumores de alta carga mutacional, como descrito em melanomas e cânceres de pulmão. Ao considerar que muitos pacientes são resistentes às terapias padrões devido ao acúmulo de mutações nas células neoplásicas que facilitam o escape imune, faz-se necessário implementar tratamentos mais direcionados (Mucha *et al.*, 2026).

A composição do TME difere entre os tipos tumorais, o que pode afetar a expressão gênica de CD39 e CD73. A utilização de anticorpos monoclonais anti-CD39 e anti-CD73 ainda é discutida e prefere-se combinar com ICIs ou quimioterapia. O uso de anticorpo anti-CD73 em monoterapia ou em combinação evidenciou suprimir crescimento tumoral em vários modelos por potencializar as respostas imunes antineoplásicas (Xia *et al.*, 2023; Mucha *et al.*, 2026). Diversos tipos de tumores são insensíveis aos ICIs, possivelmente pelo TME utilizar distintas vias imunossupressoras e algumas neoplasias aumentarem a expressão gênica das ectoenzimas CD39 e CD73 após ação de fármacos (Mucha *et al.*, 2026).

Como as terapias antineoplásicas causam alta liberação de ATP extracelular, o qual é desfosforilado pelas CD39 e CD73 para formar ADO, ocorre a manutenção de um ambiente imunossupressor, com inibição de células imunes efetoras e ativação de Tregs. Por isso, limitar a liberação de ATP e sua conversão em ADO é fundamental para evitar o escape imune tumoral. Ademais, a maior sinalização da ADO em tecidos tumorais aumenta a expressão dos receptores de checkpoint imunes, que contribuem para a manutenção de um TME imunossupressor e o escape imune. Dessa forma, essas vias atuam de forma sinérgica para progressão neoplásica, por isso, o bloqueio dessas vias demonstra ser promissor para potencializar o uso de quimioterápicos e outras imunoterapias (Xia *et al.*, 2023).

A expressão gênica de CD73 em tumores é correlacionada com a infiltração de células imunes, pior taxa de sobrevivência e uma menor sobrevivência geral em pacientes oncológicos. Em um estudo clínico que investigou inibidores da via adenosinérgica, inibir a via CD39 e CD73 aumentou a ativação das células imunes, expandiu a atividade das células T no sangue, além de aumentar a infiltração de células T no tecido tumoral. Como a adenosina possui rápida metabolização, aferir o nível de adenosina em amostras de pacientes é ineficiente, por isso, não se usa a ADO como biomarcador medindo diretamente sua concentração em amostras tumorais. Contudo, os perfis de expressão gênica relacionados à adenosina mostraram uma boa correlação com os níveis de adenosina em tumores. Assim, o

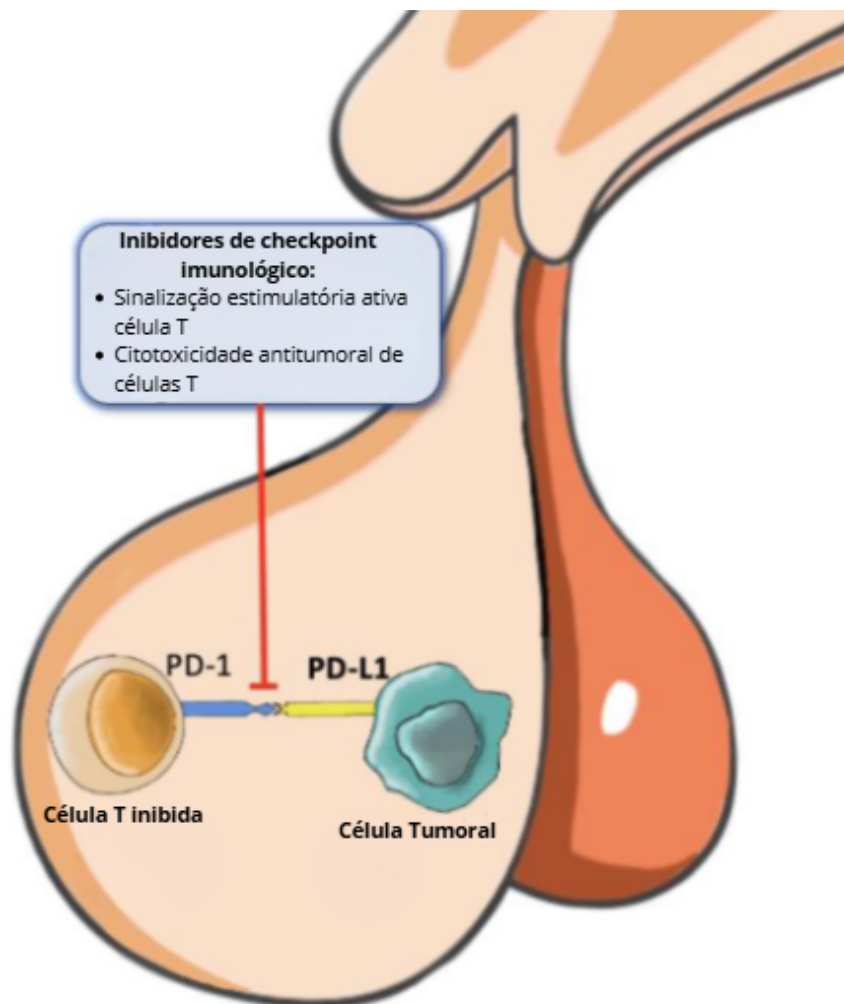
perfil da expressão gênica relacionada à ADO têm potencial para uso como biomarcadores para prever a resposta terapêutica (Xia *et al.*, 2023)

Liu *et al.* (2022) relatam que a combinação de anticorpo anti-CD39 e anticorpo anti-PD-1 são capazes de diminuir o crescimento tumoral. Também, bloquear a atividade da CD39 pode tornar neoplasias resistentes a fármacos sensíveis à ação do anticorpo anti-PD-1. A terapia com anticorpo monoclonal anti-CD39 também demonstra potencial, como o ES014 que inibe a atividade de CD39 e de TGF- β , que participa da progressão do TME imunossupressor (Xia *et al.*, 2023).

A compreensão dos mecanismos de checkpoint imunológico, principalmente de PD-1 e PD-L1, permitiu desenvolver os ICIs, que bloqueiam as proteínas do ponto de controle, permitem a reativação das células T (Lin *et al.*, 2024), ampliam sua ação citotóxica e promovem a destruição das células neoplásicas (Cossu *et al.*, 2023; Mucha *et al.*, 2026). Os medicamentos consistem em anticorpos monoclonais anti-PD-1 pembrolizumabe e nivolumabe, que promovem a destruição de células neoplásicas ao inibir o PD-L1, fazendo o sistema imune reconhecer o tumor (Lopes-Pinto *et al.*, 2024), como brevemente esquematizado na Figura 3. Mucha e sua equipe (2026) descrevem que as taxas de resposta ao tratamento com ICIs depende da expressão gênica das proteínas do eixo PD-1/PD-L1 ou se os pacientes foram previamente tratados com outras terapias.

O uso desses fármacos demonstrou eficácia significativa na terapia de outros tumores sólidos e pode ser adjuvante em PitNETs agressivos que não respondem ao tratamento convencional e demonstram progressão tumoral (Cossu *et al.*, 2023). Em PitNETs, combinar TMZ com inibidores de PD-1 potencializa a indução da apoptose e induz parada do ciclo celular nas células adenohipofisárias, além de diminuir a secreção hormonal em PitNETs funcionantes (Guo *et al.*, 2025). Outro estudo encontrou efeitos positivos no uso de inibidores de checkpoints em casos refratários e metastáticos, como controle da hipersecreção hormonal em alguns subtipos de PitNETs e redução da massa tumoral. No entanto, alguns pacientes não foram responsivos e até mesmo apresentaram progressão da doença (Lopes-Pinto *et al.*, 2024).

Figura 3 - Representação do eixo PD-1/PD-L1 na interação entre célula tumoral adenohipofisária e célula T, onde agem os inibidores de checkpoint imunológicos.



Fonte: Adaptado de Cossu *et al.* (2023).

Assim, ao considerar os mecanismos de progressão tumoral, alterações no microambiente celular e suas repercussões sistêmicas, faz-se necessário formular estratégias de diagnóstico, acompanhamento e terapêutica que sejam aplicadas aos diferentes subtipos de PitNETs. Adicionalmente, tais métodos devem ser estendidos para casos agressivos e recidivantes, além de combinar maneiras de bloquear diferentes eixos imunes para impedir a progressão tumoral.

4 METODOLOGIA

4.1 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto de pesquisa guarda-chuva intitulado “Neoplasias do Sistema Nervoso Central: Análise do Sistema Purinérgico e do Estresse Oxidativo” foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal da Fronteira Sul (CEP/UFFS-CAAE: 65163722.0.0000.5564), pela direção hospitalar Associação Hospitalar Lenoir Vargas Ferreira - Hospital Regional do Oeste e pelo hospital particular de Chapecó-SC. O contato com paciente/responsáveis só passou a ser realizado após essa aprovação no comitê de ética e nos hospitais. Igualmente, as coletas de pesquisa somente começaram após a assinatura do TCLE pelo paciente ou responsável.

No termo, os pacientes ou os responsáveis por eles afirmam ter compreendido o objetivo da pesquisa e declaram estar de acordo com a sua realização, sem qualquer remuneração ou forma de recompensa, sendo sua participação voluntária e com autonomia para desistir da colaboração do estudo quando desejar, sem necessidade de qualquer explicação e sem nenhuma forma de penalização. Destaca-se que os principais benefícios para a participação na pesquisa são a contribuição para os avanços da ciência, principalmente na área médica, os quais podem ser úteis no contínuo combate aos tumores em Sistema Nervoso Central, como PitNETs, além de proporcionar maior qualidade de vida, bem-estar, conforto para os pacientes e para a comunidade.

4.2 DELINEAMENTO DO ESTUDO

A presente pesquisa faz parte do projeto guarda-chuva “Neoplasias do Sistema Nervoso Central: Análise do Sistema Purinérgico e Estresse Oxidativo” desenvolvido na UFFS. Trata-se de um estudo quantitativo, observacional e transversal.

4.3 LOCAL DO ESTUDO

A pesquisa foi realizada no município de Chapecó, estado de Santa Catarina (SC), na região Sul do Brasil, em que o serviço público de referência para tratamento oncológico da região, a Associação Hospitalar Lenoir Vargas Ferreira - Hospital Regional do Oeste (HRO) é o ponto de coleta de dados e de amostras biológicas. A obtenção das amostras foi realizada nos setores de Neurocirurgia e no Centro Cirúrgico e o acesso aos prontuários é designado, conforme assinatura do Termo de Confidencialidade, nos respectivos setores do hospital.

4.4 POPULAÇÃO E AMOSTRAGEM

Tamanho amostral: O presente estudo teve caráter exploratório e utilizou todas as amostras disponíveis no período de coleta. Não foi realizado cálculo de tamanho amostral a priori, por esse motivo, os achados devem ser interpretados com cautela, especialmente em análises que envolvem múltiplas comparações. Para transparência, reportamos o número efetivo de amostras em cada análise e discutimos a limitação do poder estatístico na seção de limitações.

Critérios de inclusão: Foram incluídos 19 pacientes de ambos os sexos diagnosticados com adenoma de hipófise, maiores de 18 anos, submetidos à ressecção cirúrgica nos hospitais de referência de Chapecó-SC com aprovação para o projeto, dentro do período de 2023 a 2025, que concordaram em participar da pesquisa sob assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Critérios de exclusão: Foram excluídos pacientes que apresentavam outros tipos de neoplasias não correspondentes a adenomas de hipófise, e pacientes menores de 18 anos.

Ingresso à pesquisa: Para cada participante, os médicos da equipe de pesquisa contaram os pacientes, ou seus responsáveis, que foram submetidos à ressecção cirúrgica de tumores de SNC. Com a devida antecedência ao procedimento cirúrgico, esses profissionais efetuaram o convite para que o paciente participasse da pesquisa de forma voluntária, realizando os esclarecimentos gerais sobre a pesquisa, incluindo a autonomia do participante, os possíveis riscos e benefícios, os dados coletados, o uso desses dados, os objetivos e a justificativa da

pesquisa. Essa abordagem foi realizada na sala de espera, nos setores de neurologia ou no bloco cirúrgico, de acordo com a necessidade da instituição local, com o objetivo de respeitar a logística e a rotina do setor hospitalar, o trabalho dos profissionais envolvidos no procedimento cirúrgico e o conforto dos pacientes. Após essa etapa, foi disponibilizado o TCLE para integração definitiva do participante à pesquisa. Os participantes foram integrados apenas sob a assinatura do TCLE. Todos os indivíduos participantes da pesquisa foram identificados por números, de forma a preservar o sigilo dos dados e a privacidade.

4.5 OBTENÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras coletadas dos participantes da pesquisa foram compostas pelo tecido tumoral ressecado e dados dos prontuários dos pacientes. Os tumores ressecados pelo neurocirurgião são divididas, de forma que apenas parte do tecido é encaminhada como amostra para a pesquisa. Essas amostras foram inicialmente armazenadas em microtubo contendo 1,5 mL de reagente estabilizador RNALater, e transportadas até os laboratórios da UFFS Campus Chapecó, em que foram definitivamente armazenadas até o período de extração para a análise por qRT-PCR. Vale ressaltar que, as coletas foram realizadas por um profissional de enfermagem membro do grupo de pesquisa, seguindo técnicas assépticas a fim de reduzir os danos inerentes ao procedimento.

Os dados clínicos dos participantes foram disponibilizados pela equipe médica responsável, que forneceu as informações necessárias sob supervisão e controle de acesso, restritamente aos organizadores da pesquisa. Os dados coletados pelos pesquisadores foram: Idade, sexo, diagnóstico de adenoma de hipófise (a partir de radiográfico e anatomopatológico), volume tumoral, nível da escala KNOSP, grau de funcionalidade pré-operatório conforme escala Karnofsky, tabagismo e comorbidades no pré-operatório, uso de corticóides ou profilaxia anticonvulsiva no pré-operatório, ocorrência de convulsão intra-operatória e grau de ressecção cirúrgica. Essas informações foram coletadas a serviço exclusivo da caracterização e análise estatística deste estudo. Destaca-se que os dados dos prontuários estão arquivados em dispositivos protegidos com senha pela equipe médica participante da presente pesquisa; a equipe deste estudo atuou sob assinatura dos termos de compromisso e de confidencialidade firmados entre os

pesquisadores e o HRO para realizar a análise dos prontuários. Ademais, os direitos de privacidade dos participantes são preservados e, dessa forma, toda divulgação da pesquisa é feita de forma anônima.

4.6 TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS

Todas as amostras biológicas foram transportadas em caixas térmicas refrigeradas até os laboratórios da UFFS do Campus Chapecó, em prazos menores de 4 horas após sua extração. No respectivo laboratório, o material foi acondicionado em microtubos, identificado e guardado em prateleira própria de um freezer -80°C . As identificações nos microtubos incluem as seguintes informações: nome do projeto, tipo de amostra, número do participante. Para cada tipo de amostra, houve uma caixa específica, a fim de evitar perdas pela manipulação de material.

Esse armazenamento se deu pelo tempo necessário para a realização do estudo descrito no cronograma de desenvolvimento do projeto. Após esse período, realizou-se o descarte das amostras conforme protocolos estabelecidos para tal procedimento. Nesse sentido, o descarte dos tubos de coleta e demais materiais infectantes e/ou perfurocortantes utilizados na pesquisa também foi realizado pelos pesquisadores de acordo com as orientações descritas nos protocolos institucionais da UFFS.

4.7 PREPARO DAS AMOSTRAS E ANÁLISE VIA QRT-PCR

Após o armazenamento dos tumores humanos em freezer de temperatura -80°C , foram desempenhadas etapas preparatórias para a realização do teste qRT-PCR. A partir de protocolo técnico disponibilizado pela Thermo Fisher Scientific, 2025, foi efetuada extração de mRNA dos adenomas de hipófise, seguida de quantificação por espectrofotometria via NanoDrop. Em seguida, foi realizada a remoção de possíveis fragmentos de DNA contaminantes segundo orientações de Life Technologies (2012). Como último processo antes do *Quantitative Polymerase Chain Reaction* (qPCR), o mRNA extraído foi submetido à reação de transcrição reversa, conforme protocolo de Thermo Fisher Scientific (2018).

A etapa de transcrição reversa permite a obtenção do DNA complementar (cDNA) de fita simples dos tecidos em questão, o que garante a execução do qRT-PCR por ser o composto base para as reações em cadeia da polimerase. O teste qRT-PCR foi realizado segundo orientações técnicas de Thermo Fisher Scientific, 2023, com uso de corante SYBR Green e com primers referentes aos alvos CD39, CD73 e PD-L1, conforme o Quadro 2. Ao final da amplificação, realizou-se a análise da curva de dissociação para averiguar a especificidade dos produtos amplificados por meio do gene de referência ACTB.

Quadro 2 - Primers usados na reação de amplificação de cDNA por qRT-PCR.

Gene	Direção	Sequência Nucleotídica
CD39	<i>Forward</i>	TGCCCCTTATGGAAGATATAAAGGA
	<i>Reverse</i>	TAAGTGCTGCACCACTCCTG
CD73	<i>Forward</i>	GCCTGGGAGCTTACGATTTTG
	<i>Reverse</i>	TAGTGCCCTGGTACTGGTCG
PD-L1	<i>Forward</i>	TGCCGACTACAAGCGAATTACTG
	<i>Reverse</i>	CTGCTTGTCCAGATGACTTCGG
ACTB	<i>Forward</i>	TCCCTGGAGAAGAGCTACG
	<i>Reverse</i>	GTAGTTTCGTGGATGCCACA

Fonte: Elaborado pelos autores (2026).

4.8 ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Os dados quantitativos da expressão de mRNA dos genes de interesse por qRT-PCR foram visualizados com a interface Design and Analysis Software 2.7.0. Os dados foram inicialmente tabulados em planilhas eletrônicas, e, para a quantificação relativa da expressão gênica de mRNA no TME, utilizou-se o método $2^{-\Delta\Delta C_t}$. Para a análise estatística, foi usado o software GraphPad Prism 11. A normalidade foi testada via teste de Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov. Devido ao reduzido tamanho amostral, optou-se por comparar a expressão gênica de CD39,

CD73 e PD-L1 dos grupos de “Alto Grau” e “Baixo Grau” por meio do teste de Mann-Whitney. Os resultados foram expressos em média e desvio padrão ou mediana e faixa de variação, conforme a natureza da variável. De acordo com a normalidade dos resultados, verificou-se a correlação entre as variáveis pelo teste de correlação de Spearman, sendo reportados o coeficiente de correlação (r) e o valor de significância. O limiar de significância estatística foi fixado em 5% ($p < 0,05$). Foram excluídos os outliers dos resultados. O processamento das informações contou com o suporte tecnológico e laboratorial da UFFS.

4.9 ARMAZENAMENTO DE DADOS E DEVOLUTIVA DOS RESULTADOS

As amostras biológicas e os dados coletados analisados nos prontuários ficarão sob a guarda do pesquisador responsável na Universidade Federal da Fronteira Sul e foram utilizados exclusivamente para o desenvolvimento desta pesquisa e em conformidade com o projeto de estudo. Desse modo, elas somente poderão ser utilizadas em pesquisas futuras mediante o incremento de nova autorização do participante.

Os dados de arquivos digitais foram padronizados no formato de planilhas e estarão dispostos em um sistema de “nuvem”, para o qual haverá restrição de acesso por “e-mail” e “senha”, sob conhecimento apenas dos responsáveis pela pesquisa. Também foram acondicionados em um HD externo que permanecerá sob responsabilidade da pesquisadora principal por 5 anos, sendo que, após esse período de 5 anos, o grupo de pesquisadores irá realizar a exclusão desses arquivos digitais como forma de descarte. Com relação aos documentos físicos, os mesmos foram acondicionados em pastas de arquivos especificando a pesquisa e o tipo de material disposto nesta, os mesmos serão armazenados em armário com chave na UFFS sob responsabilidade da pesquisadora principal. Esses documentos físicos, após o período de 5 anos, serão fragmentados através de máquina específica e, após, será realizado o descarte em lixo descartável.

Ao 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 ao Centro de Estudos do HRO. Igualmente, será enviado um email 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.

5 RESULTADOS

A apresentação dos resultados obtidos nesta pesquisa foi estruturada em duas etapas principais para facilitar a compreensão dos achados. Primeiramente, detalha-se o perfil clínico dos participantes, com destaque para a estratificação do grau de invasão tumoral pela classificação Knosp. Em seguida, são expostos os resultados quantitativos das análises moleculares via qRT-PCR, contemplando a avaliação da expressão gênica de CD39, CD73 e PD-L1 nos diferentes graus de invasão, finalizando com as análises de correlação estatística entre os marcadores investigados no microambiente tumoral.

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Participaram deste estudo 19 pacientes submetidos à ressecção de PitNETs. Do total, 52,6% eram mulheres, cuja mediana de idade foi de 57 anos (Intervalo Interquartil [IQ]: 48–63 anos), e 47,4% eram homens, com idade mediana de 46 anos (IQ: 40–59 anos). Considerando a amostra completa, a mediana de idade foi de 55 anos (IQ: 41–62,5). Nenhum dos indivíduos era tabagista, utilizava anticonvulsivantes ou apresentou crises epilépticas antes da cirurgia.

A comorbidade mais prevalente foi a hipertensão arterial sistêmica, presente em 31,6% dos casos, também foram relatados diabetes mellitus tipo 2 (5,3%) e hipotireoidismo (5,3%), conforme descrito na Tabela 1. Entre as manifestações relacionadas ao efeito de massa tumoral, a cefaléia foi a mais comum (26,3%), seguida por alterações visuais (5,3%) e pan-hipopituitarismo (5,3%), igualmente especificados na Tabela 1. Entretanto, não há informações detalhadas sobre a produção hormonal dos tumores de todos os participantes, o que limita a possibilidade de cruzamento com esses dados clínicos.

A avaliação funcional foi realizada por meio da escala de Karnofsky Performance Status (KPS), utilizada para estimar prognóstico e acompanhar a evolução clínica de pacientes oncológicos (Ferreira; Moreira; Lourenço, 2024). Nenhum paciente apresentou comprometimento funcional relevante: todos obtiveram pontuação superior a 70. A maioria (78,9%) alcançou valores acima de 90 pontos, enquanto apenas um paciente (5,3%) registrou escore inferior a 80.

Para categorização dos casos, utilizou-se o grau de invasão cavernosa segundo a escala de Knosp revisada, fornecido pelo neurocirurgião integrante da pesquisa. Devido ao número reduzido de participantes, a classificação foi simplificada em duas categorias, semelhante ao critério de Araujo-Castro e associados (2022): graus 1 e 2 foram agrupados como baixo grau, enquanto graus 3 e 4 foram considerados de alto grau de invasão. Assim, 31,58% dos pacientes apresentaram PitNETs classificados como baixo grau Knosp, 63,16% como alto grau Knosp, e um caso (5,3%) não teve graduação registrada. Nenhum tumor foi classificado como grau 0. Ao classificar por tamanho tumoral, considerou-se o maior diâmetro da neoplasia, desse modo, 14 pacientes possuíam macroadenomas (73,68%), 2 tinham microadenomas (10,53%), 2 adenomas gigantes (10,53%) e 1 não teve tamanho registrado (5,3%).

Tabela 1 - Caracterização das Amostras Seleccionadas.

Sexo		Faixa etária		Uso de Corticóide no Pré-operatório	
Feminino	10 (52,6%)	<50 anos	8 (42,1%)	Não	18 (94,7%)
Masculino	9 (47,4%)	>50 anos	11 (57,9%)	Sim**	1 (5,3%)
Cefaleia Persistente		Distúrbio Visual		Pan-hipopituitarismo	
Sim	5 (26,3%)	Sim	1 (5,3%)	Sim	1 (5,3%)
Não	14 (73,7%)	Não	18 (94,7%)	Não	18 (94,7%)
Diabetes Mellitus		Hipertensão arterial sistêmica		Hipotireoidismo	
Sim	1 (5,3%)	Sim	6 (31,6%)	Sim	1 (5,3%)
Não	18 (94,7%)	Não	13 (68,4%)	Não	18 (94,7%)
Volume tumoral em cm³		Grau KNOSP		Tamanho Tumoral	
0 ± 4,7924	6 (31,58%)	1	2 (10,53%)	Micro Adenomas	2 (10,53%)
4,7924 ± 9,5698	6 (31,58%)	2	4 (21,05%)	Macro Adenomas	14 (73,68%)

9,5698 ± 14,3472	3 (15,79%)	3a	7 (36,84%)	Adenomas Gigantes	2 (10,53%)
14,3472 ± 19,1246	1 (5,26%)	3b	1 (5,26%)	Não informado	1 (5,3%)
19,1246 ± 23,902	2 (10,53%)	4	4 (21,05%)		
Não informado	1 (5,26%)	Não informado	1 (5,26%)		

Escore escala KPS*		Grau de Ressecção Cirúrgica		KNOSP Simplificado	
100 a 90	15 (78,9%)	Total	7 (36,84%)	Alto	12 (63,16%)
89 a 80	3 (15,8%)	Subtotal	7 (36,84%)	Baixo	6 (31,58%)
79 a 70	1 (5,3%)	Parcial	5 (26,32%)	Não informado	1 (5,26%)

* Karnofsky Performance Status (KPS).

** Dexametasona 16mg/dia.

Fonte: Dados da pesquisa (2025); Valores percentuais aproximados.

Os registros de imagem e os laudos operatórios serviram de base para classificar o grau de ressecção tumoral em três níveis: ressecção total (eliminação completa da massa), subtotal (presença de doença residual intimamente ligada a tecidos críticos) e parcial (intervenção com finalidade descompressiva). A Tabela 2 evidencia como esses desfechos variam: a cura cirúrgica (ressecção total) foi obtida em 100% dos tumores nível Knosp 1. Em contrapartida, não houve sucesso na remoção total de nenhum tumor Knosp 4, cenário em que predominaram cirurgias parciais (75%) e subtotais (25%). Quando aplicada a escala simplificada, verificou-se que a ressecção total foi possível em metade (50%) dos pacientes com baixo grau de Knosp, enquanto nos tumores de alto grau esse índice limitou-se a 33%.

Tabela 2 – Distribuição dos pacientes segundo o grau de invasão (escala de Knosp) e a extensão da ressecção cirúrgica do tumor.

Grau KNOSP	Ressecção Total (n)	Ressecção Subtotal (n)	Ressecção Parcial (n)	Total de Pacientes
------------	---------------------	------------------------	-----------------------	--------------------

Grau 1	2	0	0	2
Grau 2	1	2	1	4
Grau 3a	3	3	1	7
Grau 3b	1	0	0	1
Grau 4	0	1	3	4
Total Geral	7	6*	5	18

Fonte: Elaborada pelos autores (2026).

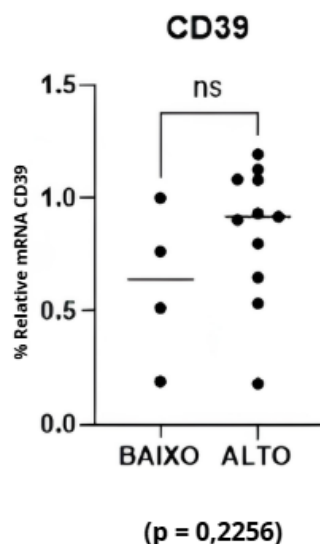
*O paciente com grau Knosp não informado não foi considerado na contagem.

5.2 RESULTADOS DAS ANÁLISES

5.2.1 Resultados da quantificação da expressão de CD39

A Figura 4 apresenta o resultado das análises de qRT-PCR para o gene CD39, comparando os grupos de Alto e Baixo graus de invasão. Para a expressão de CD39, o grupo de PitNETs com baixo grau Knosp apresentou mediana 0,6405 (n = 4), enquanto a mediana do grupo com alto grau Knosp foi de 0,9190 (n = 11), não havendo aumento da expressão nos tumores de alto grau em comparação aos de baixo grau. A diferença entre os grupos apresentou valor $p = 0,2256$, sem relevância estatística.

Figura 4 - Gráfico de dispersão representando os níveis relativos de expressão de mRNA do gene CD39 em tumores de baixo e alto grau, avaliados por qRT-PCR.



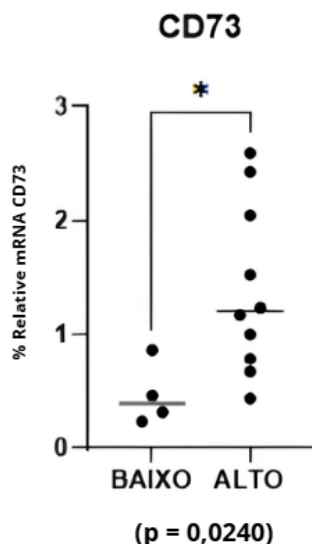
(p = 0,2256).

Fonte: Resultados da Pesquisa (2025).

5.2.2 Resultados da quantificação da expressão de CD73

A Figura 5 apresenta o resultado das análises de qRT-PCR para o gene CD73, comparando os grupos de Alto e Baixo graus de invasão. Para a expressão de CD73, o grupo de PitNETs com baixo grau Knosp apresentou mediana 0,3885 (n = 4), enquanto a mediana do grupo com alto grau Knosp foi de 1,203 (n = 10), com aumento na expressão gênica nos tumores de alto grau em comparação aos tumores de baixo grau. A diferença entre os grupos apresentou valor $p = 0,0240$, estatisticamente relevante.

Figura 5 - Gráfico de dispersão representando os níveis relativos de expressão de mRNA do gene CD73 em tumores de baixo e alto grau, avaliados por qRT-PCR.



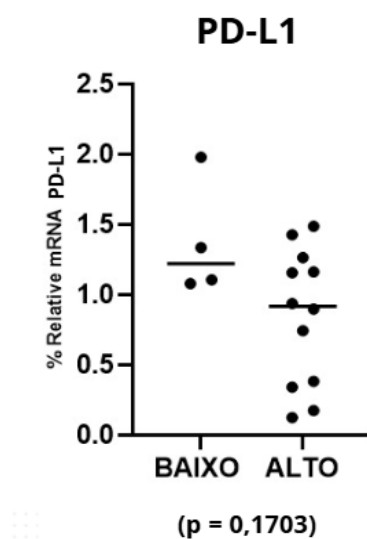
(p = 0,0240).

Fonte: Resultados da Pesquisa (2025).

5.2.3 Resultados da quantificação da expressão de PD-L1

A Figura 6 apresenta o resultado das análises de qRT-PCR para o gene PD-L1, comparando os grupos de Alto e Baixo graus de invasão. Para a expressão de PD-L1, o grupo de PitNETs com baixo grau Knosp apresentou mediana 1,220 (n = 4), enquanto a mediana do grupo com alto grau Knosp foi de 0,9165 (n = 12), não havendo aumento da expressão nos tumores de alto grau quando comparados aos tumores de baixo grau. A diferença entre os grupos apresentou valor $p = 0,1703$, sem relevância estatística.

Figura 6 - Gráfico de dispersão representando os níveis relativos de expressão de mRNA do gene PD-L1 em tumores de baixo e alto grau, avaliados por qRT-PCR.



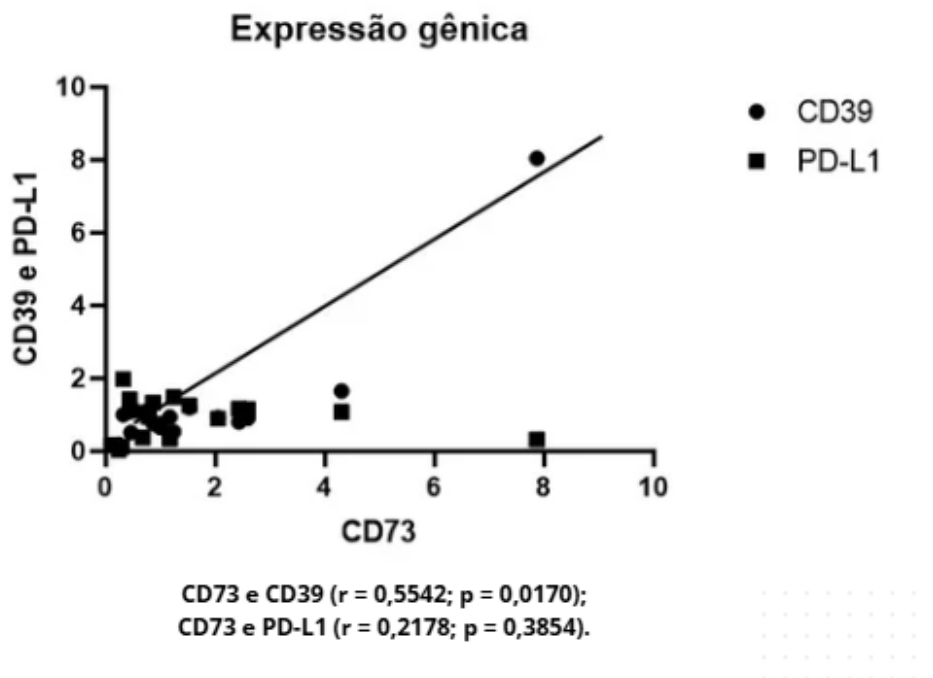
(p = 0,1703).

Fonte: Resultados da Pesquisa (2025).

5.2.4 Resultado dos testes de correlação entre a expressão dos genes

Foi realizado o teste de correlação de Spearman, devido os dados não terem distribuição normal, comparando os pares dos genes de interesse, sendo entre CD39 e CD73 e entre PD-L1 e CD73, ambos representados na Figura 7.

Figura 7 - Teste de correlação entre a expressão gênica quantitativa de CD39 e CD73, e entre PD-L1 com CD73 no tecido de PitNETs.



CD73 e CD39 ($r = 0,5542$; $p = 0,0170$);

CD73 e PD-L1 ($r = 0,2178$; $p = 0,3854$).

Fonte: Resultados da pesquisa (2026).

A análise de correlação mostrou uma associação positiva moderada e estatisticamente significativa entre as 18 amostras de CD73 e CD39 ($r = 0,5542$; IC95%: 0,1030 - 0,8162; valor $p = 0,0170$; $n = 18$), indicando que a variação em CD73 explica aproximadamente 30,7% da variância observada em CD39 ($R^2 \approx 0,3071$). Em contraste, não foi observada correlação significativa entre os genes CD73 e PD-L1 ($r = 0,2178$; IC95%: -0,2911 - 0,6305; valor $p = 0,3854$; $n = 18$), sugerindo ausência de evidência de associação entre essas duas variáveis no presente conjunto de dados.

6 DISCUSSÃO

O presente estudo investigou o perfil de expressão gênica de CD39, CD73 e de PD-L1 no TME de PitNETs advindos de uma amostra de 19 pacientes submetidos à ressecção cirúrgica. Notou-se a elevada prevalência de tumores com alto grau Knosp, 63,16% dos casos, consistente com a descrição de Micko *et al.* (2015), que observaram a alta prevalência de tumores invasivos, entre 46 e 85%, evidenciando o potencial invasivo dos PitNETs e a necessidade clínica de identificar marcadores de agressividade. Apesar da maioria desses tumores ser benigna e não demonstrar comportamento agressivo, a invasão do seio cavernoso permanece um grande desafio ao sucesso terapêutico, estando associada a maiores taxas de tumor residual e de recorrência (Villa *et al.*, 2024).

Embora a distribuição entre os sexos na amostra seja relativamente equilibrada, observou-se uma maior prevalência de pacientes do sexo feminino, em 52,6% da amostragem, achado que reforça a tendência descrita na literatura, inclusive, que mais da metade dos pacientes são mulheres (Tritos; Miller, 2023; Martins *et al.*, 2025). Há poucos trabalhos que descrevem a relação entre faixa etária e a incidência de PitNETs, alguns descrevem, por exemplo, que prolactinomas são mais comuns em mulheres jovens, em contraste, afetam homens com mais de 50 anos (Chanson; Maiter, 2019; Martins *et al.*, 2025). Desse modo, a faixa etária parece variar com o sexo do paciente e o subtipo tumoral, o que reforça a necessidade de pesquisas adicionais que explorem essa relação de forma mais aprofundada. Tais investigações poderão esclarecer se essas distinções refletem aspectos biológicos, fatores populacionais ou limitações metodológicas dos estudos disponíveis.

Os resultados de tamanho tumoral, com alta prevalência de macroadenomas (73,68%) estão em consonância com trabalhos prévios que apontam que macroadenomas são mais comuns, no entanto, a proporção observada em nossa amostra foi superior à descrita em estudos epidemiológicos, que relatam prevalências próximas a 50% (Tritos; Miller, 2023; Martins *et al.*, 2025). Contudo, apenas 5 pacientes com macroadenomas relataram cefaléia, sintomas que costumam estar muito presentes nesses casos pelos efeitos de massa. Um paciente com adenoma gigante apresentou perda visual e pan hipopituitarismo. Essas

discrepâncias podem estar relacionadas a uma avaliação clínica menos aprofundada, à subnotificação dos sintomas pelos pacientes e/ou equipe médica, além do diagnóstico precoce por imagem, fatores que podem ter limitado a identificação de manifestações esperadas em macroadenomas (Tritos; Miller, 2023; Martins *et al.*, 2025).

A dimensão do tumor desempenha um papel fundamental na definição do prognóstico e na estratégia cirúrgica, afetando drasticamente a viabilidade da ressecção completa da lesão. Corroborando essa premissa, Chen *et al.* (2022) observaram que o acréscimo de apenas 1 mm no diâmetro máximo do tumor reduz em 5% a probabilidade de sucesso na remoção total. Ao avaliar os desfechos operatórios da amostra, ficou evidente que o nível de invasividade determina o êxito cirúrgico. Exames de imagem indicaram que graus menores de invasão favorecem ressecções mais amplas. Detalhadamente, metade (50%) dos pacientes com classificação de Knosp de baixo grau obteve remoção total, taxa que caiu para 33% naqueles com alto grau. Nenhum indivíduo com Knosp 4 alcançou ressecção completa, limitando-se a procedimentos parciais (75%) ou subtotais (25%). Tais resultados confirmam os achados literários de que a invasão no seio cavernoso é o maior obstáculo para a cura cirúrgica dos PitNETs. É justamente a presença frequente de tecido tumoral remanescente que impulsiona a necessidade de investigar novos biomarcadores e opções terapêuticas (Araújo-Castro *et al.*, 2022; Villa *et al.*, 2024).

Diante da ausência de dados da atividade hormonal dos pacientes, a classificação pelo grau Knosp mostrou-se uma estratégia metodológica eficaz, permitindo concentrar o trabalho no comportamento biológico intrínseco dos tumores, independentemente de seus efeitos endócrinos sistêmicos. O achado mais expressivo da pesquisa foi a elevada expressão de CD73 nos tumores de alto grau Knosp, e principalmente, uma diferença estatística significativa em relação aos tumores mais restritos. Tal achado sugere maior produção de ADO, que atua como potente imunossupressor no TME, favorecendo a ativação de Tregs e a inibição de células T citotóxicas. Esse mecanismo, associado ao efluxo de ATP e à indução de MMPs descritos por Marques, Grossman e Korbonits (2020) e Yin *et al.* (2025), pode explicar a notável capacidade desses tumores de invadir estruturas adjacentes.

Dessa maneira, a maior ativação da via adenosinérgica contribui para a persistência de um microambiente imunossuprimido e para o escape imune frente às

defesas do hospedeiro (Xia *et al.*, 2023). A constatação do aumento de CD73 nos PitNETs é condizente com o comportamento desse gene em outros tumores sólidos, em que é frequentemente associado a prognósticos ruins e má resposta às terapias (Mucha *et al.*, 2026). Tais evidências reforçam a relevância e o potencial da CD73 como biomarcador preditivo de agressividade e um possível alvo terapêutico.

O fato de a expressão de CD73 ter atingido significância estatística mesmo diante de uma amostra reduzida ressalta a robustez biológica deste achado. Por atuar como a ectonucleotidase central na produção de adenosina, os dados sugerem que a via purinérgica, impulsionada fortemente pela atividade de CD73, constitui um mecanismo essencial para a aquisição e manutenção do fenótipo invasivo nos PitNETs.

A análise do gene CD39 demonstrou que PitNETs com alto grau de invasão apresentaram uma expressão mediana numericamente superior em comparação ao grupo de baixo grau. Embora essa diferença represente um aumento de aproximadamente 43% na mediana de expressão no grupo mais invasivo, a análise pelo teste de Mann-Whitney não apontou significância estatística, com isso, esse gene não pode ser associado ao grau de invasão pela classificação Knosp nas amostras analisadas. Contudo, a ausência de relevância estatística neste ensaio está fortemente associada ao pequeno tamanho amostral, particularmente no grupo de baixo grau, o que confere baixo poder estatístico à pesquisa, chamado de Erro Tipo II. Diante da clara diferença numérica nas medianas, não se pode descartar o papel do CD39 na invasividade dos PitNETs, o que requer comprovação com mais pesquisas e com amostragem ampliada.

A análise de correlação entre os genes fortalece a compreensão da via purinérgica nos PitNETs. A co-expressão positiva e significativa observada entre CD39 e CD73 reflete a natureza coordenada deste eixo bioquímico. Na literatura oncológica geral, sabe-se que a expressão de ambos os genes é co-regulada por fatores de transcrição comuns, como o Sp1 e STAT3, os quais são ativados simultaneamente pelas condições de hipóxia e inflamação do microambiente tumoral (Antonioli *et al.*, 2013; Giuliani *et al.*, 2019).

Essa co-regulação transcricional é uma exigência fisiológica da via: a atividade final da enzima CD73 é totalmente subordinada à eficiência da CD39, uma vez que o acúmulo de ATP e de ADP no meio atua como inibidor competitivo da proteína CD73 (Antonioli *et al.*, 2013). Portanto, a associação estatística encontrada

no presente estudo corrobora que a maquinaria purinérgica é induzida em bloco no microambiente invasivo, garantindo que a via seja traduzida de forma funcional para assegurar a conversão eficiente de ATP em adenosina. Contudo, interpretações definitivas sobre a força dessa correlação devem ser feitas com cautela, em virtude das limitações inerentes ao tamanho amostral.

Outra pista molecular relevante sobre a biologia desses tumores provém da avaliação simultânea do checkpoint imunológico clássico (PD-L1) em face à via purinérgica. A ausência de diferença significativa na expressão de PD-L1 entre os grupos e sua falta de correlação com CD73 sugerem que os mecanismos de escape imune mediados pela ADO e pelo eixo PD-1/PD-L1 podem atuar de forma independente nos PitNETs. Essa heterogeneidade já foi observada em diferentes subtipos histológicos, justificando a variabilidade observada (Krzentowska *et al.*, 2025a).

Avaliar simultaneamente os genes da via purinérgica (CD39/CD73) e do checkpoint imunológico clássico (PD-L1) fornece pistas importantes sobre a biologia dos PitNETs. Os resultados demonstraram que, enquanto a expressão de PD-L1 não teve alteração significativa, a expressão de CD73 foi drasticamente superior nos tumores mais invasivos. A ausência de aumento de PD-L1 sugere que a progressão e o fenótipo invasivo, isto é, alto grau Knosp, nestes tumores podem não depender do eixo clássico de evasão imune PD-1/PD-L1. Em contrapartida, a expressão elevada de CD73 aponta para a via da adenosina como o provável mecanismo predominante de imunossupressão e que facilita a invasão tecidual no microambiente destes tumores. Este perfil genético reforça a relevância do eixo purinérgico como um potencial alvo terapêutico para tumores neuroendócrinos hipofisários, especialmente os agressivos.

A associação entre invasão e crescimento tumoral em tumores neuroendócrinos hipofisários é conhecida, somada com as alterações nas proporções de linfócitos T (Marques *et al.*, 2023). Como essas células infiltrantes habitualmente expressam altas concentrações de ectonucleotidases (Maj *et al.*, 2017), a conversão do ATP extracelular em ADO atua diretamente como fator permissivo para a agressividade tumoral, ainda que estudos como o de Guo *et al.* (2025) encontrem dificuldades em associar estatisticamente os padrões de infiltrado à invasividade de forma isolada.

Os achados deste estudo trazem implicações terapêuticas substanciais. Os PitNETs invasivos, caracterizados por alta expressão de CD73, poderiam ser candidatos ideais para ensaios clínicos com imunoterapias anti-CD73. Além disso, a comprovada independência entre os níveis de CD73 e PD-L1 sugere que terapias combinadas, visando o bloqueio simultâneo de ambos os eixos, podem oferecer uma conduta mais eficaz contra o escape imune tumoral e oferecendo uma abordagem oncológica significativamente mais eficaz e personalizada para pacientes com tumores neuroendócrinos hipofisários invasivos e refratários.

7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Apesar da relevância dos achados, este estudo apresenta algumas importantes limitações metodológicas. Primeiramente, não foi realizado cálculo amostral prévio para estabelecer o número mínimo de participantes, dessa forma, utilizou-se as amostras disponíveis, o que pode limitar a representatividade dos resultados e dificulta uma análise fidedigna da população afetada por PitNETs. Segundamente, não foi possível classificar os tumores nos subtipos tumorais estabelecidos pela OMS devido à ausência de dados anatomopatológicos e imunohistoquímicos. Em consonância, uma das amostras biológicas não continha material suficiente para PCR, e o paciente sem classificação de Knosp foi excluído dos resultados e das análises estatísticas. Ademais, alguns dados clínicos foram perdidos nos prontuários, como idade de um paciente e a classificação Knosp de outro, também, não estavam disponíveis avaliações de níveis hormonais nos participantes da pesquisa, o que restringe a integridade das informações disponíveis.

Outro ponto importante é a ausência de análise funcional envolvendo as moléculas ATP, ADP e ADO, limitando a compreensão mais aprofundada do sistema purinérgico no comportamento tumoral e do microambiente imune. Os resultados não significativos de CD39 e de PD-L1 não excluem a possibilidade de associação entre a expressão gênica e o grau de invasão Knosp, com o tamanho reduzido da amostra, ocorre aumento de chance de erro tipo II. Além disso, não há literatura consolidada sobre a expressão de CD39 e CD73 em PitNETs, dificultando comparações com nossos achados. A expressão gênica de PD-L1, apesar de descrita por alguns autores, parece depender do subtipo tumoral e do fator de transcrição da célula de origem, e não existe consenso sobre seu impacto no comportamento e evolução dos PitNETs.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo atingiu seus objetivos ao caracterizar o perfil clínico e molecular de pacientes com PitNETs. Do ponto de vista clínico-epidemiológico, a pesquisa caracterizou-se por uma distribuição equilibrada entre os sexos, com idade mediana na quinta década de vida e o predomínio absoluto de macroadenomas, sendo a hipertensão arterial sistêmica a comorbidade mais prevalente na amostra. No âmbito molecular, este trabalho evidencia que o microambiente tumoral de PitNETs com comportamento invasivo é fortemente modulado pela hiperativação da via purinérgica. A expressão significativa da ectonucleotidase CD73 nos tumores com alto grau de Knosp aponta para a produção exacerbada de adenosina como um possível mecanismo biológico para promover a agressividade tumoral, a invasão tecidual e o escape imunológico destas neoplasias.

Adicionalmente, embora o aumento na expressão isolada de CD39 não tenha atingido significância estatística na comparação entre os grupos, a forte correlação positiva encontrada entre CD39 e CD73 demonstra que elas atuam de forma coordenada e sinérgica. Esse achado consolida a premissa de que a maquinaria de produção de adenosina é induzida em bloco no microambiente invasivo, apesar das limitações impostas pelo reduzido tamanho amostral.

De forma notável, o comportamento estável da expressão de PD-L1 e sua total ausência de correlação com o eixo purinérgico revelam que as estratégias de evasão imune operam por módulos independentes nestes tumores. Demonstrou-se que a progressão para o fenótipo invasivo na amostragem estudada demonstrou ter relação com a atividade da via da adenosina, não sendo impulsionada pela via clássica de checkpoint imune PD-1/PD-L1.

Conclui-se, portanto, que a enzima CD73 desponta como um promissor biomarcador intrínseco de agressividade e invasividade em PitNETs. Os achados fornecem substratos para o avanço da oncologia, sugerindo que o bloqueio farmacológico direcionado ao CD73 pode representar uma estratégia terapêutica eficaz para o manejo de tumores neuroendócrinos hipofisários invasivos, especialmente em estratégias combinadas. Contudo, fazem-se necessários estudos prospectivos multicêntricos, com coortes mais robustas e análises funcionais, para validar a aplicabilidade clínica destas moléculas na prática médica.

REFERÊNCIAS

ANTONIOLI, Luca *et al.* CD39 and CD73 in immunity and inflammation. **Trends in molecular medicine**, v. 19, n. 6, p. 355–367, jun. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2013.03.005>. Acesso em: 12 abr 2026.

ARAUJO-CASTRO, Marta *et al.* Radiological Knosp, Revised-Knosp, and Hardy–Wilson Classifications for the Prediction of Surgical Outcomes in the Endoscopic Endonasal Surgery of Pituitary Adenomas: Study of 228 Cases. **Frontiers in Oncology**, v. 11, 20 jan. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.807040>. Acesso em: 14 mai. 2026.

ASA, S. L. *et al.* From pituitary adenoma to pituitary neuroendocrine tumor (PitNET): an International Pituitary Pathology Club proposal. **Endocrine-Related Cancer**, v. 24, n. 4, p. C5–C8, 1 abr. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1530/ERC-17-0004>. Acesso em: 08 mai. 2026.

BURNSTOCK, G. *et al.* Purine and purinergic receptors. **Brain And Neuroscience Advances**, [S.L.], v. 2, jan. 2018. SAGE Publications. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/2398212818817494>. Acesso em: 08 jan. 2025.

CAPATINA, Cristina *et al.* Medical treatment of functional pituitary adenomas, trials and tribulations. **Journal Of Neuro-Oncology**, [S.L.], v. 168, n. 2, p. 197-213, 18 maio 2024. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11060-024-04670-x>. Acesso em: 28 jan. 2025.

CARNEIRO, Cristiene Costa; MENDES, Brena Barros; BASTOS, Lorena Gomes. ADENOMA HIPOFISÁRIO: correlação clínica, laboratorial e radiológica. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 256-269, 2015. Universidade Vale do Rio Verde (UninCor). <http://dx.doi.org/10.5892/ruvrd.v13i1.1979>. Acesso em: 29 jan. 2025.

CHANSON, Philippe; MAITER, Dominique. The epidemiology, diagnosis and treatment of Prolactinomas: the old and the new. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, [S.L.], v. 33, n. 2, 101290, abr. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.beem..> Acesso em: 28 set. 2024.

CHEN, Qiangda *et al.* CD73 acts as a prognostic biomarker and promotes progression and immune escape in pancreatic cancer. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 24, n. 15, p. 8674–8686, ago. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/jcmm.15500>. Acesso em 09 mai. 2026.

CHEN, Y. *et al.* Transsphenoidal Surgery of Giant Pituitary Adenoma: Results and Experience of 239 Cases in A Single Center. **Front. Endocrinol**, v. 13, n. 879702, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.879702>. Acesso em: 10 jun. 2026.

CHEN, Siqi *et al.* CD8+ T cells sustain antitumor response by mediating crosstalk between adenosine A2A receptor and glutathione/GPX4. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 134, n. 8, p. e170071, mar. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI170071>. Acesso em 09 mai. 2026.

CHILOIRO, Sabrina; MARINIS, Laura de. The immune microenvironment in somatotropinomas: from biology to personalized and target therapy. **Reviews In Endocrine And Metabolic Disorders**, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 283-295, 20 jan. 2023. Springer Science and Business Media LLC.

<http://dx.doi.org/10.1007/s11154-022-09782-1>. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36658300/>. Acesso em: 29 jan. 2025.

COSSU, Giulia *et al.* PD-L1 Expression in Pituitary Neuroendocrine Tumors/Pituitary Adenomas. **Cancers**, v. 15, n. 18, p. 4471, jan. 2023. DOI:

<https://doi.org/10.3390/cancers15184471>. Acesso em: 16 mai. 2026.

DAGHER, Samir A. *et al.* Imaging and clinical course of metastatic pituitary neuroendocrine tumors (PitNET): A single center case series. **The Neuroradiology Journal**, v. 39, n. 2, p. 222–230, abr. 2026. DOI:

<https://doi.org/10.1177/19714009251356278>. Acesso em: 29 mar. 2026.

DALY, A.; BECKERS, A. The Epidemiology of Pituitary Adenomas. **Endocrinology And Metabolism Clinics Of North America**, [S.L.], v. 49, n. 3, p. 347-355, set. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecl.2020.04.002>. Acesso em: 28 set. 2024.

DERWICH-RUDOWICZ, Aleksandra *et al.* Clinically relevant pituitary adenomas: a single-center epidemiological study. **Polish Archives of Internal Medicine**, 11 ago. 2025. DOI: <https://doi.org/10.20452/pamw.17082>. Acesso em: 29 mar. 2026.

DI VIRGILIO, F. Purines, Purinergic Receptors, and Cancer. **Cancer Research**, v. 72, n. 21, p. 5441–5447, 31 out. 2012. DOI:

<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-1600>. Acesso em: 27 jan. 2025.

DRUMMOND, J. *et al.* Clinical and Pathological Aspects of Silent Pituitary Adenomas. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v 104, n 7, p 2473–2489, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1210/jc.2018-00688>. Acesso em: 25 jul. 2024.

FREDHOLM, B. B. *et al.* International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and Classification of Adenosine Receptors. **Pharmacol Rev.**, v. 53, n. 4, p. 527-552, dez. 2001. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9389454/>. Acesso em: 15 mai. 2026.

FERREIRA, Patrícia Cristina Dos Santos; MOREIRA, Mirian Nunes; LOURENÇO, Roberto Alves. Cross-cultural adaptation of the Karnofsky Performance Status instrument to Brazilian Portuguese. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 51, p. e20243771, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-6991e-20243771-en>. Acesso em: 02 jun. 2026.

GIRALDI, Erica; ALLEN, Jason W.; IOACHIMESCU, Adriana G.. Pituitary Incidentalomas: best practices and looking ahead. **Endocrine Practice**, [S.L.], v. 29, n. 1, p. 60-68, jan. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eprac.2022.10.004>. Acesso em: 29 jan. 2025.

GIULIANI, A. L. *et al.* Extracellular nucleotides and nucleosides as signalling molecules. **Immunology Letters**, [S.L.], v. 205, p. 16-24, jan. 2019. Elsevier BV. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.imlet.2018.11.006>. Acesso em: 07 fev. 2025.

GIULIANI, A. L.; SARTI, A. C.; DI VIRGILIO, F. Ectonucleotidases in Acute and Chronic Inflammation. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, p. 619458, 3 fev. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.619458>. Acesso em: 07 fev. 2025.

GUO, Xiaopeng *et al.* Immune atlas of pituitary neuroendocrine tumors highlights endocrine-driven immune signature and therapeutic implication. **Cell Reports**, v. 44, n. 5, 27 maio 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2025.115584>. Acesso em: 16 mai. 2026.

HU, Xiu-Min *et al.* CD73: Friend or Foe in Lung Injury. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 6, p. 5545, jan. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24065545>. Acesso em: 14 mai. 2026.

HUANG, Tian *et al.* Current perspectives and trends of CD39-CD73-eAdo/A2aR research in tumor microenvironment: a bibliometric analysis. **Frontiers in Immunology**, v. 15, p. 1427380, 12 ago. 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1427380>. Acesso em: 09 mai. 2026.

IGLESIAS, Pedro; BERROCAL, Víctor Rodríguez; DÍEZ, Juan José. Giant pituitary adenoma: histological types, clinical features and therapeutic approaches. **Endocrine**, [S.L.], v. 61, n. 3, p. 407-421, 16 jun. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12020-018-1645-x>. Acesso em: 28 set. 2024.

KIDWELL, Reilly L.; TRIPPETT, James; AGHI, Manish K. Molecular biology of pituitary neuroendocrine tumors. **Journal of Neuro-Oncology**, v. 176, n. 3, p. 197, 2026. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11060-026-05447-0>. Acesso em: 23 mar. 2026.

KRZENTOWSKA, Anna *et al.* The Roles of PD-L1, Ki-67, P53, and Cyclin D1 in PitNETs: Diagnostic and Prognostic Implications in a Series of 74 Patients. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 16, p. 7830, jan. 2025a. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms26167830>. Acesso em: 16 mai. 2026.

KRZENTOWSKA, Anna *et al.* Radiological and Immunohistochemical Characteristics of PitNETs in 79 Patients Undergoing Neurosurgery. **Cancers**, v. 17, n. 4, p. 666, 16 fev. 2025b. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers17040666>. Acesso em: 14 mai. 2026.

LIN, Shaojian *et al.* Single-cell transcriptomics reveal distinct immune-infiltrating phenotypes and macrophage–tumor interaction axes among different lineages of pituitary neuroendocrine tumors. **Genome Medicine**, v. 16, n. 1, p. 60, 24 abr. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13073-024-01325-4>. Acesso em: 10 mai. 2026.

LIN, Xin *et al.* Regulatory mechanisms of PD-1/PD-L1 in cancers. **Molecular Cancer**, v. 23, n. 1, p. 108, 18 maio 2024. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12943-024-02023-w>. Acesso em: 31 mai. 2026.

LIU, Zhaoyun *et al.* Adenosinergic axis and immune checkpoint combination therapy in tumor: A new perspective for immunotherapy strategy. **Frontiers in Immunology**, v. 13, 8 set. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.978377>. Acesso em: 03 jun. 2026.

LOPES-PINTO, Mariana *et al.* Therapeutical Usefulness of PD-1/PD-L1 Inhibitors in Aggressive or Metastatic Pituitary Tumours. **Cancers**, v. 16, n. 17, p. 3033, jan. 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers16173033>. Acesso em: 31 mai. 2026.

MAJ, Tomasz *et al.* Oxidative stress controls regulatory T cell apoptosis and suppressor activity and PD-L1-blockade resistance in tumor. **Nature Immunology**, v. 18, n. 12, p. 1332–1341, dez. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/ni.3868>. Acesso em: 9 ago. 2025.

MARQUES, Pedro *et al.* Chemokines modulate the tumour microenvironment in pituitary neuroendocrine tumours. **Acta Neuropathologica Communications**, v. 7, n. 1, p. 172, dez. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40478-019-0830-3>. Acesso em: 10 mai. 2026.

MARQUES, Pedro; GROSSMAN, Ashley B.; KORBONITS, Márta. The tumour microenvironment of pituitary neuroendocrine tumours. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 58, p. 100852, jul. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2020.100852>. Acesso em: 10 mai. 2026.

MARQUES, P.; KORBONITS, M. Tumour microenvironment and pituitary tumour behaviour. *Journal of Endocrinological Investigation*, v 46, p 1047–1063, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40618-023-02089-1>. Acesso em: 20 fev 2025.

MASTELIC-GAVILLET, Beatris *et al.* Adenosine mediates functional and metabolic suppression of peripheral and tumor-infiltrating CD8+ T cells. **Journal for Immunotherapy of Cancer**, v. 7, p. 257, 10 out. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40425-019-0719-5>. Acesso em: 09 mai. 2026.

MARTINS, Symon *et al.* EPIDEMIOLOGIA DOS ADENOMAS DE HIPÓFISE: UMA REVISÃO DE LITERATURA. **Ciência Médica e Saúde: Do diagnóstico à prevenção e cuidado** 6, 27 jun. 2025. DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.842162512067>. Acesso em: 02 jun. 2026.

MEI, Y. *et al.* Immune profiling of pituitary tumors reveals variations in immune infiltration and checkpoint molecule expression. **Pituitary**, v 24, p 359–37, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11102-020-01114-3>. Acesso em: 30 set. 2024.

MURPHY, Sara A. *et al.* CD73 blockade enhances antitumor efficacy of oHSV in solid tumors by increasing macrophage-mediated antigen presentation. **Journal for Immunotherapy of Cancer**, v. 14, n. 1, p. e013640, 8 jan. 2026. DOI: <https://doi.org/10.1136/jitc-2025-013640>. Acesso em: 09 mai. 2026.

MICKO, Alexander S. G. *et al.* Invasion of the cavernous sinus space in pituitary adenomas: endoscopic verification and its correlation with an MRI-based

classification. **Journal of Neurosurgery**, v. 122, n. 4, p. 803–811, abr. 2015. DOI: <https://doi.org/10.3171/2014.12.JNS141083>. Acesso em: 14 mai. 2026.

MUCHA, Patryk T. *et al.* The Role of the Ecto-Nucleotidases CD73 and CD39 in Chemo- and Immunotherapy. **Cancers**, v. 18, n. 6, p. 957, jan. 2026. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers18060957>. Acesso em: 02 jun. 2026.

OSORIO, R. *et al.* Pituitary adenomas and cerebrovascular disease: a review on pathophysiology, prevalence, and treatment. **Frontiers In Endocrinology**, v. 13, p. 1064216, 13 dez. 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2022.1064216>. Acesso em: 28 set. 2024.

RAVENTOS, Aina *et al.* Diagnosis and management of pituitary neuroendocrine tumors: recent advances. **Polish Archives of Internal Medicine**, v. 136, n. 1, p. 17191, 29 jan. 2026. DOI: <https://doi.org/10.20452/pamw.17191>. Acesso em: 29 mar. 2026.

RAVEROT, Gérald *et al.* Aggressive pituitary tumours and pituitary carcinomas. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 17, n. 11, p. 671–684, nov. 2021. Acesso em: 29 mar. 2026.

ROH, Meejeon *et al.* Targeting CD73 to augment cancer immunotherapy. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 53, p. 66–76, ago. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coph.2020.07.001>. Acesso em: 09 mai. 2026.

SCOTT, Ian S.; CHATTOPADHYAY, Arpita; ANSORGE, Olaf. Development and Microscopic Anatomy of the Pituitary Gland. In: FEINGOLD, Kenneth R. *et al.* (Orgs.). **Endotext**. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc., 2000. Acesso em: 23 mar. 2026.

SHEN, Jie *et al.* CD39 and CD73: biological functions, diseases and therapy. **Molecular Biomedicine**, v. 6, p. 97, 5 nov. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1186/s43556-025-00345-9>. Acesso em: 12 abr. 2026.

SHIH, Philip E. *et al.* Hyperenhancement of pituitary neuroendocrine tumors (PitNETs) on preoperative MRI: implications on tumor characteristics and outcomes. **Journal of Clinical Neuroscience**, v. 143, 1 jan. 2026. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2025.111747>. Acesso em: 29 mar. 2026.

STEFAN, C.; JANSEN, S.; BOLLEN, M. Modulation of purinergic signaling by NPP-type ectophosphodiesterases. **Purinergic Signalling**, v. 2, n. 2, p. 361–370, jun. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11302-005-5303-4>. Acesso em: 07 fev. 2025.

SUN, Changfa; WANG, Bochu; HAO, Shilei. Adenosine-A2A Receptor Pathway in Cancer Immunotherapy. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 837230, 21 mar. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.837230>. Acesso em: 09 mai. 2026.

TERRY, Merryl *et al.* High-Grade Progression, Sarcomatous Transformation, and/or Metastasis of Pituitary Neuroendocrine Neoplasms (PitNENs): the ucsf experience. **Endocrine Pathology**, [S.L.], v. 35, n. 4, p. 338–348, 10 out. 2024. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12022-024-09829-w>. Disponível

em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12022-024-09829-w#citeas>. Acesso em: 01 set. 2025.

VELA-PATÍÑO, S. *et al.* The Immune Microenvironment Landscape of Pituitary NeuroEndocrine Tumors, a Transcriptomic Approach. **Genes**, v. 15, n. 5, p. 531, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes15050531>. Acesso em: 22 ago. 2025.

VERKHRATSKY, A. *et al.* Biology of purinergic signalling: its ancient evolutionary roots, its omnipresence and its multiple functional significance. **Bioessays**, [S.L.], v. 36, n. 7, p. 697-705, 30 abr. 2014. Wiley. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/bies.201400024>. Acesso em: 12 mar. 2025.

VIRGILIO, F. di *et al.* P2X receptors in cancer growth and progression. **Biochemical Pharmacology**, v. 187, p. 114350, mai. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114350>. Acesso em: 15 ago. 2025.

VILLA, Chiara *et al.* Grading and staging for pituitary neuroendocrine tumors. **Brain Pathology**, v. 35, n. 1, p. e13299, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1111/bpa.13299>. Acesso em: 20 jan. 2025.

VIRGILIO, F. di; ADINOLFI, E. Extracellular purines, purinergic receptors and tumor growth. **Oncogene**, [S.L.], v. 36, n. 3, p. 293-303, 20 jun. 2016. Springer Science and Business Media LLC. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/onc.2016.206>. Acesso em: 01 set. 2025.

XIA, Chenglai *et al.* CD39/CD73/A2AR pathway and cancer immunotherapy. **Molecular Cancer**, v. 22, n. 1, p. 44, 2 mar. 2023. <https://doi.org/10.1186/s12943-023-01733-x>. Acesso em: 14 mai. 2026.

YAN, Nan *et al.* Single-cell transcriptomic analysis reveals tumor cell heterogeneity and immune microenvironment features of pituitary neuroendocrine tumors. **Genome Medicine**, v. 16, n. 1, p. 2, 2 jan. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13073-023-01267-3>. Acesso em: 10 mai. 2026.

YIN, H. *et al.* Pannexin-1 regulation of ATP release promotes the invasion of pituitary adenoma. **Journal of Endocrinological Investigation**, v. 48, n. 2, p. 317–332, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40618-024-02445-9>. Acesso em: 25 jun. 2025.

YU, Q. *et al.* Expression of P2Y receptors in the rat anterior pituitary. **Purinergic Signalling**, v. 7, p. 207–219, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11302-011-9236-9>. Acesso em: 05 ago. 2025.

ZHAO, W. *et al.* Expression of P2X receptors in the rat anterior pituitary. **Purinergic Signalling**, v. 16, p. 17–28, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11302-019-09685-y>. Acesso em: 10 ago. 2025.

ZHOU, Yuhang *et al.* Oxidative stress in pituitary neuroendocrine tumors: Affecting the tumor microenvironment and becoming a new target for pituitary neuroendocrine tumor therapy. **CNS Neuroscience & Therapeutics**, v. 29, n. 10, p. 2744–2759, out. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1111/cns.14315>. Acesso em: 10 mai. 2026