

ANEXO I

Zimbra

elise.eidt@uffs.edu.br

Re: Pedido de esclarecimento em relação ao Processo nº 23205.102535/2018-51

De : Andreia Machado Cardoso
<andreia.cardoso@uffs.edu.br>

qua, 26 de ago de 2020 17:09

 3 anexos

Assunto : Re: Pedido de esclarecimento em relação ao Processo nº 23205.102535/2018-51

Para : Diretoria de Pesquisa UFFS
<dir.dpe@uffs.edu.br>, elise eidt
<elise.eidt@uffs.edu.br>

Cc : Secretaria dos Orgaos Colegiados
<secoc@uffs.edu.br>, Coordenacao
Adjunta de Pesquisa e Pos Graduacao,
Campus Chapeco
<cappg.ch@uffs.edu.br>

Boa tarde,

Sim, houve apresentação na JIC.
Em anexo envio documentos comprobatórios.
Esses documentos também foram encaminhados via prisma, conforme orientações da DPE e CAP para a prestação de contas do edital 1010.

Atenciosamente.

Andréia Machado Cardoso
Universidade Federal da Fronteira Sul - Campus Chapecó
Doutora em Bioquímica Toxicológica
Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0690875690674360>
Research gate:
https://www.researchgate.net/profile/Andreia_Machado_Cardoso
(49) 99961 1000

De: "Diretoria de Pesquisa UFFS" <dir.dpe@uffs.edu.br>
Para: "Secretaria dos Orgaos Colegiados" <secoc@uffs.edu.br>
Cc: "Andreia Machado Cardoso" <andreia.cardoso@uffs.edu.br>, "Coordenacao Adjunta de Pesquisa e Pos Graduacao, Campus Chapeco" <cappg.ch@uffs.edu.br>
Enviadas: Quarta-feira, 26 de agosto de 2020 16:54:07
Assunto: Re: Pedido de esclarecimento em relação ao Processo nº 23205.102535/2018-51

Olá Elise, tudo bem?

Irei verificar e retorno. Contudo, a obrigação de apresentação na JIC é do bolsista, nos casos em que houve bolsista. O que não estaria relacionado diretamente com a prestação de contas financeira.

A apresentação na JIC não faz parte das obrigações do Termo de Outorga, nem todos os professores deste Edital foram contemplados com cotas de bolsas.

Atenciosamente,
Ana Paula dos Santos

Diretoria de Pesquisa - DPE
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Universidade Federal da Fronteira Sul
Bloco da Biblioteca - Sala 310
Rodovia SC 484 km 02, Fronteira Sul
Cep 89815-899 Chapecó-SC
49) 2049-3743 / 3748 / 3740 (DPE)
49) 2049-3138 (PROPEPG)
www.uffs.edu.br/pesquisa

De: "Secretaria dos Orgaos Colegiados" <secoc@uffs.edu.br>
Para: "Andreia Machado Cardoso" <andreia.cardoso@uffs.edu.br>
Cc: "Coordenacao Adjunta de Pesquisa e Pos Graduacao - Campus Chapeco" <cappg.ch@uffs.edu.br>, "Diretoria de Pesquisa UFFS" <dir.dpe@uffs.edu.br>
Enviadas: Quarta-feira, 26 de agosto de 2020 16:32:08
Assunto: Fwd: Pedido de esclarecimento em relação ao Processo nº 23205.102535/2018-51

Prezada Professora Andréia,

Encaminho a pedido da conselheira do CONCUR, Elise Eidt. Coloco-me à disposição, se necessário.

Atenciosamente,

Mirian Lovis de Souza
Secretaria dos Órgãos Colegiados (SECOC)
Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS)
49 2049-3725 / #213725

De: "elise eidt" <elise.eidt@uffs.edu.br>
Para: "Secretaria dos Orgaos Colegiados" <secoc@uffs.edu.br>

Enviadas: Quarta-feira, 26 de agosto de 2020 16:10:36

Assunto: Pedido de esclarecimento em relação ao Processo nº 23205.102535/2018-51

Prezada Mirian,
Boa tarde

Considerando o disposto no §1º Art. 17 do Regimento Interno do Conselho Curador:

"Art. 17. Para obter subsídios ou informações de qualquer natureza, o conselheiro poderá valer-se da colaboração dos órgãos da Universidade, conforme disposto no Título II - Capítulo XII deste Regimento.

§1º Se o conselheiro tiver necessidade de informações de outros setores da Universidade fará requerimento à secretaria".

Solicito que encaminhe este e-mail, com pedido de esclarecimentos, à docente Andréia Machado Cardoso, com cópia para a Coordenação Adjunta de Pesquisa e Pós-Graduação - Campus Chapecó (CAPPG-CH) e Diretoria de Pesquisa (DPE):

Considerando que, enquanto conselheira do Conselho Curador (CONCUR), fui designada para relatar o Processo nº 23205.102535/2018-51 – Prestação de Contas do subprojeto "Avaliação de Constituintes do Sistema Purinérgico e de Parâmetros Inflamatórios em Componentes Sanguíneos de Pacientes com Adenocarcinoma Colorretal Esporádico";

Considerando o disposto no Termo de Outorga, item 4 DAS ATRIBUIÇÕES E RESPONSABILIDADES DO OUTORGADO, subitem 4.1 Ao aceitar o auxílio financeiro, o OUTORGADO compromete-se a: a) dedicar-se às atividades pertinentes ao projeto aprovado, observando o disposto nas Leis nº 8.112/90, nº 8.666/93, nº 10.973/04, nos Decretos nº 93.872/86, nº 9.283/18 e nos demais instrumentos legais pertinentes, **bem como as exigências do Edital 1010/GR/UFFS/2018** (grifo meu);

Considerando o previsto no Edital nº 1010/GR/UFFS/2018, item 8 PRESTAÇÃO DE CONTAS E DIVULGAÇÃO DOS RESULTADOS, subitem **8.4 Os resultados finais da pesquisa deverão ser submetidos aos Anais da IX ou X Jornada de Iniciação Científica e Tecnológica (JIC) da UFFS, mencionando-se o apoio recebido da UFFS ao desenvolvimento do subprojeto.** (grifo meu);

Considerando que não localizei informação de submissão aos Anais da JIC dos resultados finais do subprojeto em análise;

Questiono se a submissão dos resultados finais da pesquisa foi realizada? Em caso afirmativo, solicito o comprovante de publicação (IX JIC) ou submissão (X JIC). Em caso negativo, solicito apresentação da justificativa de não submissão.

O retorno ao questionamento deverá ser encaminhado, via e-mail à SECOC, até o dia 04/09/2020.

Atenciosamente,

Elise Cristina Eidt

Assistente em Administração
Serviço de Transportes - Campus Chapecó
Universidade Federal da Fronteira Sul
(49) 2049-6407

 **Relatorio_de_Atividades_Bolsista - Mauro final .pdf**
940 KB

 **Relatório de Resultados Finais.docx**
244 KB

 **Resumo JIC Mauro edital 1010.pdf**
415 KB



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
GABINETE DO REITOR

Avenida Fernando Machado, 108-E, Centro, Chapecó-SC, CEP 89802-112, 49 2049-3700
dir.dpe@uffs.edu.br

RELATÓRIO DE ATIVIDADES DO BOLSISTA

1- Dados do Subprojeto

Edital: 1010/GR/UFFS/2018
Título Projeto: Avaliação dos constituintes do sistema purinérgico e parâmetros inflamatórios em componentes sanguíneos de pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico
Orientador: Andréia Machado Cardoso

02- Dados Bolsista

Nome Bolsista: Mauro Nicollas Oliveira Silverio
Curso: Medicina
Campus: Chapecó

03- Participação em eventos e atividades do projeto

Nº de encontros com o orientador realizados no período ____7____	
Nº de encontros do grupo de pesquisa de que participou no período __3__	
Participação em eventos no período	Tipo de participação
IX Brazilian Purine Club Meeting, 2019 – Centro de Cultura e Eventos UFSC – Florianópolis	[] ouvinte [X] apresentador
Estágio voluntário no Laboratório de Imunologia e Microbiologia do CHUL – Québec Ville	[X] ouvinte [] apresentador
Oficina sobre a técnica Western Blot – UFFS campus Chapecó	[X] ouvinte [] apresentador
IX Jornada de Iniciação Científica – UFFS campus Cerro Largo	[] ouvinte [X] apresentador

04- Descrição das atividades realizadas pelo estudante

Objetivos/Finalidades das atividades



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
GABINETE DO REITOR

Avenida Fernando Machado, 108-E, Centro, Chapecó-SC, CEP 89802-112, 49 2049-3700
dir.dpe@uffs.edu.br

Avaliar parâmetros inflamatórios e a atividade e expressão dos diversos componentes do sistema purinérgico em linfócitos e plaquetas de pacientes com diagnóstico de Câncer Colorretal (CCR) esporádico do subtipo histológico adenocarcinoma, atingindo-se os seguintes objetivos: analisar a atividade e a expressão das enzimas E-NTPDase, E-NPP, E-5'-Nucleotidase e ADA em linfócitos e plaquetas de pacientes com diagnóstico de CCR do subtipo histológico adenocarcinoma e de indivíduos saudáveis; analisar a expressão dos receptores purinérgicos P2X7, P2Y6, P2Y12, P2Y2 e A2A em linfócitos e plaquetas de pacientes com diagnóstico de CCR do subtipo histológico adenocarcinoma e de indivíduos saudáveis; analisar os níveis séricos de citocinas pró e anti-inflamatórias e de nucleotídeos (ATP, ADP e AMP) e adenosina circulantes de pacientes com diagnóstico de CCR do subtipo histológico adenocarcinoma e de indivíduos saudáveis; correlacionar a atividade e expressão das enzimas e receptores com os parâmetros clínico patológicos dos pacientes. Para atingir esses objetivos, o bolsista desempenhou as seguintes funções: separar componentes do sangue (linfócitos e plaquetas) de pacientes com Adenocarcinoma Colorretal Esporádico, a fim de que as mensurações possam ser realizadas quando o número alvo de pacientes for alcançado; coordenar a limpeza dos equipamentos utilizados na pesquisa; auxiliar os demais participantes da pesquisa na execução das técnicas de separação dos componentes do sangue; participar de estágios para aprender e aprimorar técnicas utilizadas na pesquisa; realizar ensaios enzimáticos para determinação da hidrólise de ATP e ADP nos linfócitos dos pacientes; realizar determinação da concentração de ATP no soro dos pacientes.

Descrição detalhada das atividades

Após o médico alertar sobre a disponibilidade de um paciente, professores e alunos envolvidos na pesquisa coletam sangue deles e aplicam um questionário. Esse sangue é encaminhado aos laboratórios da UFFS, onde bolsistas e voluntários da Iniciação Científica, separam do sangue os linfócitos, as plaquetas, o sangue total, o soro e o plasma, e os congelam em tubos à -80°C, para futura análise. A limpeza é realizada após cada procedimento e ocorre em três passos: deixar todos os equipamentos utilizados em hipoclorito 24h, enxague com água destilada e secagem. Entre os meses de dezembro de 2018 e março de 2019, o bolsista esteve no laboratório de Imunologia e Microbiologia do CHUL (Centro Hospitalar da Universidade Laval), localizado em Quebec, no Canadá, sob a orientação do Dr. Jean Sévigny. Nessa oportunidade pôde aprofundar seus conhecimentos sobre o sistema purinérgico e aprender técnicas como Western Blot, qPCR, Atividade Enzimática e Atividade Enzimática com Anticorpos, que futuramente serão empregadas na análise de amostras do projeto em questão. Participou de uma Oficina sobre Western Blot na Universidade Federal da Fronteira Sul – Chapecó, sob orientação do professor Leandro Manfred, com o qual aprendeu a preparar os reagentes da técnica e como será a sua realização nos padrões da UFFS. Participou em todas as atividades do grupo de estudos “Estudos biológicos e clínicos em patologias humanas”, sendo apresentador em algumas delas. Realizou revisão da literatura com a constante



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
GABINETE DO REITOR

Avenida Fernando Machado, 108-E, Centro, Chapecó-SC, CEP 89802-112, 49 2049-3700
dir.dpe@uffs.edu.br

atualização do conteúdo teórico, com o objetivo de melhor compreender e pode discutir os resultados encontrados no estudo. Realizou os experimentos: Análise da atividade das enzimas do grupo ENTPD-ases na hidrólise do ATP e ADP; Análise do nível sérico circulante de ATP em pacientes com CCR e controles; Análise do nível sérico de IL-17 em pacientes com CCR e controles.

Contribuição dessas atividades para o projeto de pesquisa do orientador

Por meio da realização de tais atividades, amostras para o projeto foram coletadas e preparadas, os equipamentos para a realização das coletas foram devidamente higienizados, novos estudantes da iniciação científica puderam aprender as técnicas de separação de linfócitos e plaquetas e várias das análises bioquímicas objetivadas no projeto foram alcançadas. O bolsista pôde aprender novas técnicas e estudar mais profundamente sobre o sistema purinérgico durante o tempo no CHUL, na Oficina de Western Blot e nas participações em Congressos e Jornadas de Iniciação Científica, para melhorar a qualidade e confiabilidade dos resultados obtidos.

Resultados obtidos

O bolsista desenvolveu habilidades comunicacionais, de escrita e oratória, valorizou a pesquisa institucional e compreendeu que na sua prática profissional a constante atualização depende da realização de novos estudos. O bolsista iniciou e desenvolveu sua capacitação quanto às atividades laboratoriais que irá desenvolver e já domina as técnicas relacionadas às dosagens de sistema purinérgico, como atividade enzimática e western blot, além da utilização dos Kits de determinação do ATP sérico. Foram coletadas e separadas, até então, amostras de 19 pacientes e 10 controles. Foram analisadas ao longo do período contemplado: Atividade das enzimas ENTPD-ases na hidrólise do ATP e ADP em linfócitos de pacientes com CCR esporádico e controles, encontrando-se maior hidrólise de ATP em pacientes com CCR; Concentração sérica de ATP circulante em pacientes com CCR esporádico, encontrando-se resultados inconclusivos devido a indisponibilidade de leitura com fluorescência nos laboratórios da UFFS-Campus Chapecó; Concentração sérica de IL-17 circulante em pacientes com CCR esporádico e controles, encontrando-se quantidades semelhantes em pacientes e controles. Ressalta-se também que não foi possível realizar análises das enzimas E-NPP, E-5'-Nucleotidase e adenosina deaminase e dos receptores (P2X7, P2Y6, P2Y12, P2Y2 e A2A), devido à limitação dos recursos disponíveis, uma vez que todos os processos deverão ser repetidos quando o n alvo (40 pacientes e 40 controles) for atingido.

Produtos (incluindo ensaios e/ou artigos mesmo que não tenham sido ainda publicados*)

Resumo IXJIC (em anexo)

Auto-avaliação do estudante



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
GABINETE DO REITOR

Avenida Fernando Machado, 108-E, Centro, Chapecó-SC, CEP 89802-112, 49 2049-3700
dir.dpe@uffs.edu.br

Acredito que consegui um bom desempenho na realização das atividades realizadas ao longo do período contemplado e espero poder continuar investigando a natureza do Sistema Purinérgico nessa pesquisa por quanto tempo for necessário até que todos os objetivos sejam atingidos.

Avaliação do orientador sobre o desempenho do estudante

O estudante demonstrou, durante todo o período da bolsa, atitudes pró-ativas, interesse em desenvolver as atividades de pesquisa propostas, além de muito comprometimento com o andamento do projeto. Dessa forma, considero que o estudante Mauro obteve um desempenho muito satisfatório durante suas atividades.

Comentários (opcional)

(Anexar Plano de Trabalho aprovado na submissão)

Data: Chapecó, 18 de dezembro de 2019.

Mauro Silverio

Assinatura do estudante

André Cedraz

Assinatura do orientador



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
GABINETE DO REITOR

Avenida Fernando Machado, 108-E, Centro, Chapecó-SC, CEP 89802-112, 49 2049-3700
dir.dpe@uffs.edu.br

Parecer do Comitê Assessor de Pesquisa:

Está de acordo com o plano de trabalho? Se não, justifique.

Encaminha-se para a CAPPG do Campus para encaminhamentos.

Local e Data: _____



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
GABINETE DO REITOR

Avenida Fernando Machado, 108-E, Centro, Chapecó-SC, CEP 89802-112, 49 2049-3700
dir.dpe@uffs.edu.br

ANEXO: RESUMO IX JIC

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE E EXPRESSÃO DE COMPONENTES DO SISTEMA PURINÉRGICO EM LINFÓCITOS E PLAQUETAS DE PACIENTES COM ADENOCARCINOMA COLORRETAL ESPORÁDICO

1 Introdução/Justificativa

O câncer colorretal esporádico (CCR) é um dos subtipos de câncer com maior incidência e mortalidade, tornando-se um problema de saúde pública na população brasileira. Segundo dados do Sistema de Informações de Mortalidade (SIM) do Ministério da Saúde, no município de Chapecó (SC) as neoplasias representaram a segunda causa principal de óbitos (dados de 2012 a 2016). Os linfócitos, importantes células da inflamação moduladora dos tumores, são ricos em componentes do sistema purinérgico, que corresponde a um conjunto de enzimas e receptores e que utiliza nucleotídeos e nucleosídeos de adenina como substrato (LEDDEROSE, C. et al., 2018). A relação entre a liberação de nucleotídeos para o meio extracelular, realizada pelos tumores, e a resposta imune é bastante discutida na comunidade científica (DI VIRGILIO, ADINOLFI, 2016). No entanto, pouco se conhece sobre as características dos linfócitos relacionadas ao sistema purinérgico no câncer, que é motivo desse estudo. Dessa forma, a presente pesquisa busca compreender as relações entre o CCR e o sistema purinérgico, conhecimento de fundamental importância para o diagnóstico e tratamento dessa doença, buscando diminuir a mortalidade e reduzir os gastos públicos.

2 Objetivos

O objetivo do presente estudo é avaliar a atividade das enzimas (E-NTPDases) envolvidas na degradação dos nucleotídeos e nucleosídeos de adenina em linfócitos de pacientes diagnosticados com CCR esporádico do subtipo histológico adenocarcinoma, e em indivíduos controle saudáveis.

3 Metodologia

Atualmente a pesquisa conta com n de 14 pacientes e 10 controles, totalizando 24 participantes. Os linfócitos das amostras foram separados utilizando-se a técnica descrita por Böyum et al. (1968). A concentração das enzimas nos linfócitos foi determinada pelo método de Bradford (1976) e



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
GABINETE DO REITOR

Avenida Fernando Machado, 108-E, Centro, Chapecó-SC, CEP 89802-112, 49 2049-3700
dir.dpe@uffs.edu.br

ajustada para o intervalo entre 0,1 e 0,2 mg/mL. A atividade da enzima CD39 em linfócitos foi determinada como previamente descrito por Leal et al. (2005). Os dados foram submetidos a tratamento estatístico pelo programa GraphPad Prism 7.

4 Resultados e Discussão

O grupo experimental consiste em 14 pacientes com CCR, em ambos os sexos (7 mulheres, 7 homens) e o grupo controle consiste em 10 pessoas saudáveis (5 mulheres e 5 homens), cujas características estão apresentadas na **Tabela 1**. Os resultados obtidos para a hidrólise de ADP e ATP estão apresentados na **Figura 1**, demonstrando que a atividade da E-NTPDase em linfócitos está alterada em pacientes com CCR. A hidrólise do ADP está aumentada nos pacientes com CCR em relação ao grupo controle (1.41 ± 0.08 vs. 0.45 ± 0.04 nmol Pi/min/mg de proteína, respectivamente). A hidrólise do ATP não apresentou diferenças estatisticamente significantes no grupo de pacientes com CCR em relação ao grupo controle (2.50 ± 0.23 vs. 2.36 ± 0.22 nmol Pi/min/mg de proteína, respectivamente).

Os linfócitos T exercem importantes funções homeostáticas na mucosa intestinal saudável, enquanto que no caso de câncer colorretal, a circulação e a infiltração de linfócitos T no tumor é crucial para uma resposta imune antitumoral efetiva (LÖFROOS et al., 2017). Em ambas as situações, os linfócitos infiltrados interagem com os nucleotídeos e nucleosídeos de adenina presentes no fluido intersticial, seja pela hidrólise realizada por suas E-NTPDases, seja pela ligação aos seus receptores purinérgicos de superfície. O ATP age como imunoativador, ligando-se a receptores como o P2X7 em células dendríticas, que por sua vez ativam os linfócitos via IL-1 β . O produto da hidrólise pelas E-NTPDases é o AMP, que pode ser hidrolisado pela enzima 5'-ectonucleotidase, também expressa na superfície externa dos linfócitos, produzindo adenosina. A adenosina exerce papel imunossupressor ao se ligar, por exemplo, ao receptor P1 dos linfócitos T (DI VIRGILIO et. al., 2012). Dessa forma, o aumento da hidrólise do ADP pode estar associado ao aumento da produção de adenosina, produzindo uma imunossupressão favorável à proliferação tumoral.

5 Conclusão

A atividade da enzima E-NTPDase está aumentada em pacientes com CCR em relação aos indivíduos saudáveis. Esse fator pode estar associado ao aumento da produção de adenosina no



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
GABINETE DO REITOR

Avenida Fernando Machado, 108-E, Centro, Chapecó-SC, CEP 89802-112, 49 2049-3700
dir.dpe@uffs.edu.br

meio intersticial, que promove imunossupressão dos linfócitos e, conseqüentemente, favorece o crescimento do tumor. Ressalta-se que esses são resultados preliminares e que o estudo completo contará com um n de 40 pacientes e 40 controles, tornando as estimativas ainda mais precisas.

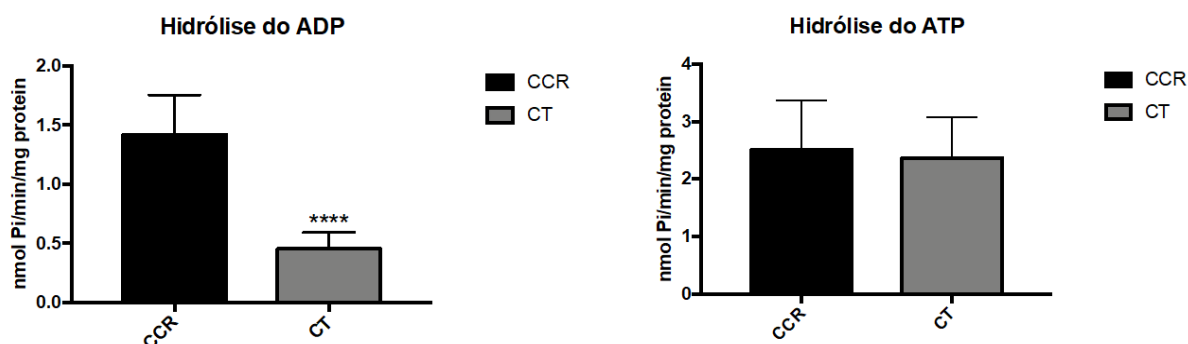


Figura 1. Atividade da enzima Ectonucleosideo trifosfato difosforilase (E-NTPDase), demonstrando hidrólise do ATP e do ADP em linfócitos de pacientes com CCR e controle. $P < 0.05$, $n = 24$.

	Pacientes	Controle
Idade	entre 30 e 39 anos: 7,14% entre 40 e 49 anos: 7,14% entre 50 e 59 anos: 42,85% entre 60 e 69 anos: 21,42% entre 70 e 79 anos: 21,42%	entre 30 e 39 anos: 10% entre 40 e 49 anos: 20% entre 50 e 59 anos: 50% entre 60 e 69 anos: 10% entre 70 e 79 anos: 10%
Sexo	masculino: 50% feminino: 50%	masculino: 50% feminino: 50%
Estadiamento	Tis: 0% T1: 0% T2: 11,12% T3: 88,88% T4: 0% NX: 11,11% N0: 44,44% N1: 33,33% N2: 11,11% MX: 40% M0: 50% M1: 10%	NSA

Tabela 1. Características gerais dos pacientes e controles em porcentagem, incluindo idade em faixas etárias, sexo e o estadiamento tumoral dos pacientes.

Referências

DI VIRGILIO, F. et al. Purines, Purinergic Receptors, and Cancer. American Association for Cancer Research, 2012.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
GABINETE DO REITOR

Avenida Fernando Machado, 108-E, Centro, Chapecó-SC, CEP 89802-112, 49 2049-3700
dir.dpe@uffs.edu.br

DI VIRGILIO, F.; ADINOLFI, E. Extracellular purines, purinergic receptors and tumor growth. **Oncogene**, v. 36, p. 1-11, 2017.

LEDDEROSE, C. et al. Purinergic P2X4 receptors and mitochondrial ATP production regulate T cell migration. *J Clin Invest*. 2018.

LÖFROOS, A.B. et al. Colorectal cancer-infiltrating T lymphocytes display a distinct chemokine receptor expression profile. *European Journal of Medical Research*, 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro, 2018.

Palavras-chave: Câncer Colorretal; Sistema Purinérgico; Linfócitos; Atividade Enzimática.

Financiamento

Bolsa concedida pela UFFS.

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

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

**MAURO NICOLLAS OLIVEIRA SILVERIO
DRA. ANDREIA MACHADO CARDOSO**

Relatório de Resultados Finais

**CHAPECÓ
2019**

**MAURO NICOLLAS OLIVEIRA SILVERIO
DRA. ANDREIA MACHADO CARDOSO**

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

Relatório dos resultados finais do projeto intitulado Avaliação dos constituintes do sistema purinérgico e parâmetros inflamatórios em componentes sanguíneos de pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico aprovado no edital 1010/GR/UFGS/2018, para avaliação pelo comitê assessor de pesquisa da UFGS

Orientadora: Dra Andréia Machado Cardoso; Grupo de Pesquisa: Estudos Biológicos e Clínicos em Patologias Humanas; Linha de Pesquisa: Saúde.

**CHAPECÓ
2019**

Resumo

O câncer colorretal esporádico (CCR) é um dos subtipos de câncer com maior incidência e mortalidade, tornando-se um problema de saúde pública para a população brasileira. Vários fatores estão envolvidos neste tipo de câncer, incluindo fatores intrínsecos e relacionados ao processo inflamatório, como os níveis de nucleotídeos e nucleosídeos de adenina, componentes do sistema purinérgico. A sinalização purinérgica envolve enzimas e receptores de membrana relacionados à degradação e utilização dos nucleotídeos extracelulares como moléculas sinalizadoras de diversos processos celulares. Assim, o objetivo do presente estudo é avaliar a atividade de enzimas (E-NTPDases, E-NPP, E-5'-Nucleotidase e adenosina deaminase) e receptores (P2X7, P2Y6, P2Y12, P2Y2 e A2A) envolvidas na sinalização purinérgica em linfócitos, e os níveis de nucleotídeos (ATP) e citocinas pró e anti-inflamatórias (IL-17) circulantes em pacientes diagnosticados com CCR esporádico do subtipo histológico adenocarcinoma, e em indivíduos controle saudáveis. Para isso, amostras de linfócitos e soro utilizadas foram coletadas por punção venosa (12 ml) em 19 pacientes (n alvo = 40) com diagnóstico de CCR previamente à remoção cirúrgica do tumor, sem história familiar da doença; e em 10 indivíduos saudáveis (n alvo = 40), do mesmo gênero e na mesma faixa etária. Foram excluídos do grupo de pacientes aqueles que apresentarem qualquer outra patologia fora o CCR esporádico. Os pacientes e indivíduos controle foram selecionados por médico oncologista ou proctologista no momento da realização do exame de colonoscopia. Aqueles que tiveram resultado positivo para adenocarcinoma colorretal ou que puderam fazer parte do grupo controle, foram convidados a realizarem coleta única de sangue periférico. A atividade das enzimas foi avaliada por método bioquímico colorimétrico. Os dados obtidos foram analisados pelos métodos estatísticos de ANOVA, teste de Wilcoxon, e pelo método de Pearson para a verificação da correlação entre as variáveis pesquisadas. Os resultados encontrados reforçam a relação entre as ENTPD-ases presentes em linfócitos e o microambiente tumoral. A avaliação da interleucina 17 sérica nos pacientes e controles não apresentou diferenças estatísticas. Suspeita-se que essa diferença seja notada caso o espaço amostral seja maior do que o disponível no momento. Os resultados obtidos através da realização deste estudo são fundamentais para elucidar os aspectos fisiopatológicos relacionados com a sinalização purinérgica que podem estar envolvidos no desenvolvimento do CCR. Ressalta-se que o estudo da fisiopatologia do CCR é de fundamental importância para o diagnóstico e tratamento dessa doença, buscando diminuir a mortalidade e reduzir os gastos públicos. Além disso, espera-se desvendar as implicações do sistema purinérgico no CCR e que isto possa se tornar uma importante ferramenta para sugerir novas possibilidades terapêuticas.

Palavras-chave (de 03 a 05 palavras): ectonucleotidases; receptores purinérgicos; fisiopatologia do câncer colorretal; parâmetros inflamatórios.

Lista de Tabelas e Figuras

Tabela 1: Características gerais dos pacientes e controles em porcentagem, incluindo idade em faixas etárias, sexo e o estadiamento tumoral dos pacientes.....	7
Figura 1: Atividade da enzima Ectonucleosídeo trifosfato difosforilase (E-NTPDase), demonstrando hidrólise do ATP e do ADP em linfócitos de pacientes com CCR e controle.....	7
Figura 2: Diferença entre concentração de IL-17 em pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico e indivíduos controle saudáveis utilizando-se a técnica ELISA.....	8

SUMÁRIO

1. CAPÍTULO 1: ENSAIO DE ATIVIDADE ENZIMÁTICA DAS ENTPD-ases EM LINFÓCITOS DE PACIENTES COM ADENOCARCINOMA COLORRETAL ESPORÁDICO.....	
6	
1.1 INTRODUÇÃO.....	6
1.2 OBJETIVOS.....	6
1.3 METODOLOGIA.....	6
1.4 RESULTADOS.....	6
1.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	7
2. CAPÍTULO 2: DETERMINAÇÃO DA IL-17 CIRCULANTE EM PACIENTES COM ADENOCARCINOMA COLORRETAL ESPORÁDICO.....	8
3.	
REFERÊNCIAS.....	9

CAPÍTULO 1: ENSAIO DE ATIVIDADE ENZIMÁTICA DAS ENTPD-ases EM LINFÓCITOS DE PACIENTES COM ADENOCARCINOMA COLORRETAL ESPORÁDICO

- **Introdução:** O câncer colorretal esporádico (CCR) é um dos subtipos de câncer com maior incidência e mortalidade, tornando-se um problema de saúde pública na população brasileira. Segundo dados do Sistema de Informações de Mortalidade (SIM) do Ministério da Saúde, no município de Chapecó (SC) as neoplasias representaram a segunda causa principal de óbitos (dados de 2012 a 2016). Os linfócitos, importantes células da inflamação moduladora dos tumores, são ricos em componentes do sistema purinérgico, que corresponde a um conjunto de enzimas e receptores e que utiliza nucleotídeos e nucleosídeos de adenina como substrato (LEDDEROSE, C. et al., 2018). A relação entre a liberação de nucleotídeos para o meio extracelular, realizada pelos tumores, e a resposta imune é bastante discutida na comunidade científica (DI VIRGILIO, ADINOLFI, 2016). No entanto, pouco se conhece sobre as características dos linfócitos relacionadas ao sistema purinérgico no câncer, que é motivo desse estudo. Dessa forma, a presente pesquisa busca compreender as relações entre o CCR e o sistema purinérgico, conhecimento de fundamental importância para o diagnóstico e tratamento dessa doença, buscando diminuir a mortalidade e reduzir os gastos públicos.
- **Objetivos:** O objetivo do presente estudo é avaliar a atividade das enzimas (E-NTPDases) envolvidas na degradação dos nucleotídeos e nucleosídeos de adenina em linfócitos de pacientes diagnosticados com CCR esporádico do subtipo histológico adenocarcinoma, e em indivíduos controle saudáveis.
- **Metodologia:** Até o momento da realização do ensaio, a pesquisa contava com n de 14 pacientes e 10 controles, totalizando 24 participantes. Os linfócitos das amostras foram separados utilizando-se a técnica descrita por Böyum et al. (1968). A concentração das enzimas nos linfócitos foi determinada pelo método de Bradford (1976) e ajustada para o intervalo entre 0,1 e 0,2 mg/mL. A atividade da enzima CD39 em linfócitos foi determinada como previamente descrito por Leal et al. (2005). Os dados foram submetidos a tratamento estatístico pelo programa GraphPad Prism 7.
- **Resultados e Discussões:** O grupo experimental consiste em 14 pacientes com CCR, em ambos os sexos (7 mulheres, 7 homens) e o grupo controle consiste em 10 pessoas saudáveis (5 mulheres e 5 homens), cujas características estão apresentadas na Tabela 1. Os resultados obtidos para a hidrólise de ADP e ATP estão apresentados na Figura 1, demonstrando que a atividade da E-NTPDase em linfócitos está alterada em pacientes com CCR. A hidrólise do ADP está aumentada nos pacientes com CCR em relação ao grupo controle (1.41 ± 0.08 vs. 0.45 ± 0.04 nmol Pi/min/mg de proteína, respectivamente). A hidrólise do ATP não apresentou diferenças estatisticamente significantes no grupo de pacientes com CCR em relação ao grupo controle (2.50 ± 0.23 vs. 2.36 ± 0.22 nmol Pi/min/mg de proteína, respectivamente). Os linfócitos T exercem importantes funções homeostáticas na mucosa intestinal saudável, enquanto que no caso de câncer colorretal, a circulação e a infiltração de linfócitos T no tumor é crucial para uma resposta imune antitumoral efetiva (LÖFROOS et al., 2017). Em ambas as situações, os linfócitos infiltrados interagem com os nucleotídeos e nucleosídeos de adenina presentes no fluido intersticial, seja pela hidrólise realizada por suas E-NTPDases, seja pela ligação aos seus receptores

purinérgicos de superfície. O ATP age como imunoativador, ligando-se a receptores como o P2X7 em células dendríticas, que por sua vez ativam os linfócitos via IL-1 β . O produto da hidrólise pelas E-NTPDases é o AMP, que pode ser hidrolisado pela enzima 5'-ectonucleotidase, também expressa na superfície externa dos linfócitos, produzindo adenosina. A adenosina exerce papel imunossupressor ao se ligar, por exemplo, ao receptor P1 dos linfócitos T (DI VIRGILIO et. al., 2012). Dessa forma, o aumento da hidrólise do ADP pode estar associado ao aumento da produção de adenosina, produzindo uma imunossupressão favorável à proliferação tumoral.

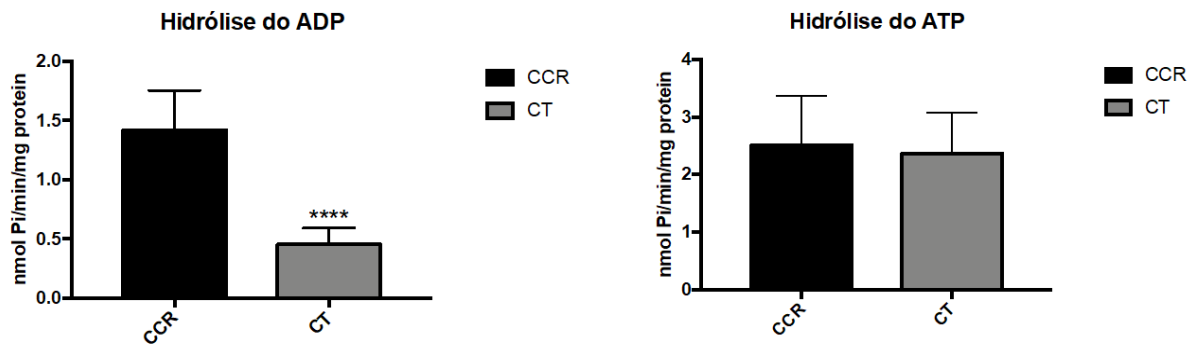


Figura 1. Atividade da enzima Ectonucleosídeo trifosfato difosforilase (E-NTPDase), demonstrando hidrólise do ATP e do ADP em linfócitos de pacientes com CCR e controle. $P < 0.05$, $n = 24$.

	Pacientes	Controle
Idade	entre 30 e 39 anos: 7,14% entre 40 e 49 anos: 7,14% entre 50 e 59 anos: 42,85% entre 60 e 69 anos: 21,42% entre 70 e 79 anos: 21,42%	entre 30 e 39 anos: 10% entre 40 e 49 anos: 20% entre 50 e 59 anos: 50% entre 60 e 69 anos: 10% entre 70 e 79 anos: 10%
Sexo	masculino: 50% feminino: 50%	masculino: 50% feminino: 50%
Estadiamento	Tis: 0% T1: 0% T2: 11,12% T3: 88,88% T4: 0% NX: 11,11% N0: 44,44% N1: 33,33% N2: 11,11% MX: 40% M0: 50% M1: 10%	NSA

Tabela 1. Características gerais dos pacientes e controles em porcentagem, incluindo idade em faixas etárias, sexo e o estadiamento tumoral dos pacientes.

- **Considerações Finais:** A atividade da enzima E-NTPDase está aumentada em pacientes com CCR em relação aos indivíduos saudáveis. Esse fator pode estar associado ao aumento da produção de adenosina no meio intersticial, que promove imunossupressão dos linfócitos e, conseqüentemente, favorece o crescimento do tumor. Ressalta-se que esses são resultados preliminares e que o estudo completo contará com um n de 40 pacientes e 40 controles, tornando as estimativas ainda mais

precisas. Ressalta-se também que não foi possível realizar análises das enzimas E-NPP, E-5'-Nucleotidase e adenosina deaminase e dos receptores (P2X7, P2Y6, P2Y12, P2Y2 e A2A), devido à limitação dos recursos disponíveis, uma vez que todos os processos deverão ser repetidos quando o n alvo for atingido. A quantificação do ATP circulante foi realizada em leitura espectrofotométrica sem sucesso, uma vez que o leitor fluorescente adquirido pela UFFS ainda não está disponível.

CAPÍTULO 2: DETERMINAÇÃO DA IL-17 CIRCULANTE EM PACIENTES COM ADENOCARCINOMA COLORRETAL ESPORÁDICO

- **Introdução:** O câncer colorretal (CCR) é um dos tipos de câncer mais frequentes no mundo, representando mais de 10% dos casos (IARC, 2019). Majoritariamente os casos em que o câncer colorretal se desenvolve são esporádicos – mais de 80% dos casos - e envolvem fatores como idade avançada e estilo de vida (KUIPERS et al, 2015). Após a formação do tumor no cólon, o sistema imune reage às células neoplásicas de variadas formas, incluindo multiplicação de linfócitos, alteração fenotípica, síntese e liberação de citocinas como a IL-17 (RAZI et al., 2019). A Interleucina 17 (IL-17), produzida pelas células Th17, contribui para a imunidade antitumoral por duas vias: promove a resposta citotóxica dos linfócitos T, levando à regressão tumoral; ou facilita a angiogênese e o retorno das células tumorais ao foco principal, levando ao crescimento tumoral (MURUGAIYAN, G., SAHA, B., 2009). Foi encontrado aumento dos níveis séricos de IL-17 em pacientes com CCR, cogitando-se a utilização de tais valores como marcador tumoral para diagnósticos (RADOSAVLJEVIC, G. et al., 2010). O presente estudo busca avaliar a concentração sérica de pacientes com CCR esporádico recém diagnosticados, avaliando seu potencial de marcador tumoral.
- **Objetivos:** O objetivo do estudo é avaliar a concentração da IL-17 sérica de pacientes diagnosticados com CCR esporádico do subtipo histológico adenocarcinoma, e em indivíduos controle saudáveis.
- **Metodologia:** A pesquisa conta com n de 19 pacientes e 10 controles, totalizando 29 participantes. O soro foi obtido por centrifugação do sangue dos participantes. Todas as amostras de soro foram mantidas a -80°C até que a IL-17 foi mensurada, utilizando-se o kit ELISA (ELABSCIENCE®), seguindo-se as instruções do fabricante. Os dados foram submetidos a tratamento estatístico pelos programas OriginLab e GraphPad Prism 7.
- **Resultados e Discussões:** A análise das amostras pela técnica ELISA não evidenciou diferenças estatisticamente significantes entre os níveis séricos de IL-17 em pacientes com CCR e controles saudáveis, conforme observa-se em FIGURA 2. A concentração média de IL-17 sérica nos pacientes foi de 56,56 pg/mL ($\pm 69,73$), em comparação à 38,59 pg/mL dos controles. Diferenças não foram obtidas em 19 amostras de pacientes e em cada uma das 10 amostras de controles. Dessa forma, o estudo de RADOSAVLJEVIC, G. et al., em 2010.

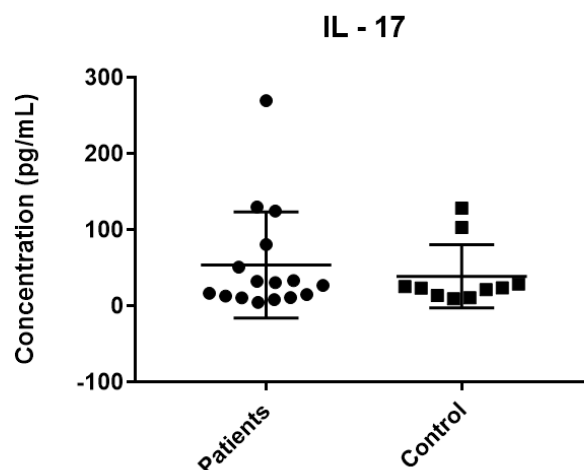


Figura 2. Diferença entre concentração de IL-17 em pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico e indivíduos controle saudáveis utilizando-se a técnica ELISA.

REFERÊNCIAS

- DI VIRGILIO, F. et al. Purines, Purinergic Receptors, and Cancer. American Association for Cancer Research, 2012.
- DI VIRGILIO, F.; ADINOLFI, E. Extracellular purines, purinergic receptors and tumor growth. *Oncogene*, v. 36, p. 1-11, 2017.
- KUIPERS, Ernst J. et al. Colorectal Cancer. Nature Reviews Disease Primers, v. 1, n. 1, 5 nov. 2015.
- LEDDEROSE, C. et al. Purinergic P2X4 receptors and mitochondrial ATP production regulate T cell migration. *J Clin Invest*. 2018.
- LÖFROOS, A.B. et al. Colorectal cancer-infiltrating T lymphocytes display a distinct chemokine receptor expression profile. *European Journal of Medical Research*, 2017.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro, 2018.
- MURUGAIYAN, Gopal; SAHA, Bhaskar. Protumor vs Antitumor Functions of IL-17. *The Journal of Immunology*, v. 183, n. 7, p. 4169–4175, 18 set. 2009.
- IARC. Colorectal cancer screening. *IARC Handb Cancer Prev*. 17:1–300. Lyon – France, 2019. Available from: <http://publications.iarc.fr/573>.
- RADOSAVLJEVIC, G. et al. Interleukin-17 may be a valuable serum tumor marker in patients with colorectal carcinoma. *Neoplasma*, v. 57, n. 2, p. 135–144, jan. 2010.
- RAZI, Sepideh et al. IL-17 and Colorectal Cancer: From Carcinogenesis to Treatment. *Cytokine*, v. 116, p. 7–12, abr. 2019.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE E EXPRESSÃO DE COMPONENTES DO SISTEMA PURINÉRGICO EM LINFÓCITOS E PLAQUETAS DE PACIENTES COM ADENOCARCINOMA COLORRETAL ESPORÁDICO

MAURO NICOLLAS OLIVEIRA SILVERIO^{1,2*}, MATHEUS PELINSKI DA SILVEIRA^{2,3}, JOÃO PAULO DAL MAGRO MOCELLIN^{2,4}, DANIELA ZANINI^{2,5}, ANDRÉIA MACHADO CARDOSO^{2,6}

1 Introdução/Justificativa

O câncer colorretal esporádico (CCR) é um dos subtipos de câncer com maior incidência e mortalidade, tornando-se um problema de saúde pública na população brasileira. Segundo dados do Sistema de Informações de Mortalidade (SIM) do Ministério da Saúde, no município de Chapecó (SC) as neoplasias representaram a segunda causa principal de óbitos (dados de 2012 a 2016). Os linfócitos, importantes células da inflamação moduladora dos tumores, são ricos em componentes do sistema purinérgico, que corresponde a um conjunto de enzimas e receptores e que utiliza nucleotídeos e nucleosídeos de adenina como substrato (LEDDEROSE, C. et al., 2018). A relação entre a liberação de nucleotídeos para o meio extracelular, realizada pelos tumores, e a resposta imune é bastante discutida na comunidade científica (DI VIRGILIO, ADINOLFI, 2016). No entanto, pouco se conhece sobre as características dos linfócitos relacionadas ao sistema purinérgico no câncer, que é motivo desse estudo. Dessa forma, a presente pesquisa busca compreender as relações entre o CCR e o sistema purinérgico, conhecimento de fundamental importância para o diagnóstico e tratamento dessa doença, buscando diminuir a mortalidade e reduzir os gastos públicos.

2 Objetivos

O objetivo do presente estudo é avaliar a atividade das enzimas (E-NTPDases) envolvidas na

- 1 Acadêmico do curso de Medicina e Bolsista em Iniciação Científica, **Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó**, contato: **mauro-nicollas@outlook.com**
- 2 Grupo de Pesquisa: Estudos Biológicos e Clínicos em Patologias Humanas
- 3 Acadêmico do curso de Medicina, **Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó**, contato: **matheuspelinski@gmail.com**
- 4 Acadêmico do curso de Medicina, **Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó**, contato: **jpdalmocellin@gmail.com**
- 5 Doutora em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica, docente do curso de medicina da **Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Chapecó**
- 6 Doutora em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica, docente do curso de medicina da **Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Chapecó, Orientadora.**

degradação dos nucleotídeos e nucleosídeos de adenina em linfócitos de pacientes diagnosticados com CCR esporádico do subtipo histológico adenocarcinoma, e em indivíduos controles saudáveis.

3 Metodologia

Atualmente a pesquisa conta com n de 14 pacientes e 10 controles, totalizando 24 participantes. Os linfócitos das amostras foram separados utilizando-se a técnica descrita por Böyum et al. (1968). A concentração das enzimas nos linfócitos foi determinada pelo método de Bradford (1976) e ajustada para o intervalo entre 0,1 e 0,2 mg/mL. A atividade da enzima CD39 em linfócitos foi determinada como previamente descrito por Leal et al. (2005). Os dados foram submetidos a tratamento estatístico pelo programa GraphPad Prism 7.

4 Resultados e Discussão

O grupo experimental consiste em 14 pacientes com CCR, em ambos os sexos (7 mulheres, 7 homens) e o grupo controle consiste em 10 pessoas saudáveis (5 mulheres e 5 homens), cujas características estão apresentadas na **Tabela 1**. Os resultados obtidos para a hidrólise de ADP e ATP estão apresentados na **Figura 1**, demonstrando que a atividade da E-NTPDase em linfócitos está alterada em pacientes com CCR. A hidrólise do ADP está aumentada nos pacientes com CCR em relação ao grupo controle (1.41 ± 0.08 vs. 0.45 ± 0.04 nmol Pi/min/mg de proteína, respectivamente). A hidrólise do ATP não apresentou diferenças estatisticamente significantes no grupo de pacientes com CCR em relação ao grupo controle (2.50 ± 0.23 vs. 2.36 ± 0.22 nmol Pi/min/mg de proteína, respectivamente).

Os linfócitos T exercem importantes funções homeostáticas na mucosa intestinal saudável, enquanto que no caso de câncer colorretal, a circulação e a infiltração de linfócitos T no tumor é crucial para uma resposta imune antitumoral efetiva (LÖFROOS et al., 2017). Em ambas as situações, os linfócitos infiltrados interagem com os nucleotídeos e nucleosídeos de adenina presentes no fluido intersticial, seja pela hidrólise realizada por suas E-NTPDases, seja pela ligação aos seus receptores purinérgicos de superfície. O ATP age como imunoativador, ligando-se a receptores como o P2X7 em células dendríticas, que por sua vez ativam os linfócitos via IL-1 β . O produto da hidrólise pelas E-NTPDases é o AMP, que pode ser hidrolisado pela enzima 5'-ectonucleotidase, também expressa na superfície externa dos linfócitos, produzindo adenosina. A adenosina exerce papel imunossupressor ao se ligar, por exemplo, ao receptor P1 dos linfócitos T (DI VIRGILIO et. al., 2012). Dessa forma, o

aumento da hidrólise do ADP pode estar associado ao aumento da produção de adenosina, produzindo uma imunossupressão favorável à proliferação tumoral.

5 Conclusão

A atividade da enzima E-NTPDase está aumentada em pacientes com CCR em relação aos indivíduos saudáveis. Esse fator pode estar associado ao aumento da produção de adenosina no meio intersticial, que promove imunossupressão dos linfócitos e, conseqüentemente, favorece o crescimento do tumor. Ressalta-se que esses são resultados preliminares e que o estudo completo contará com um n de 40 pacientes e 40 controles, tornando as estimativas ainda mais precisas.

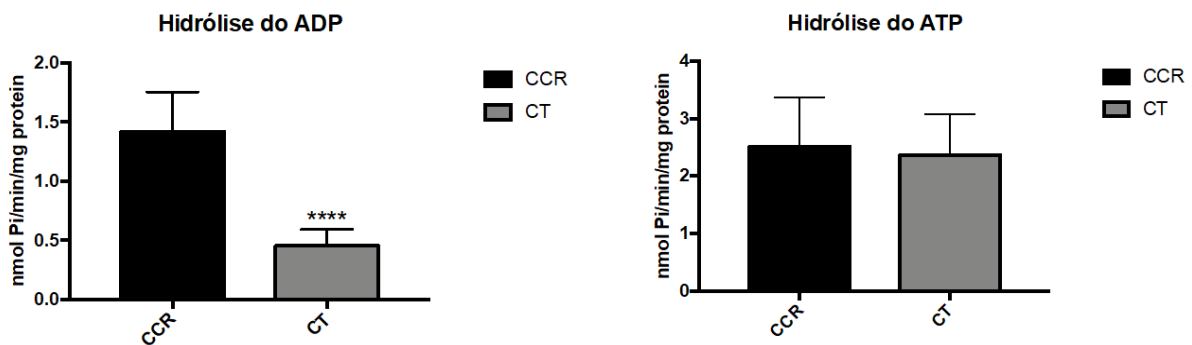


Figura 1. Atividade da enzima Ectonucleosídeo trifosfato difosforilase (E-NTPDase), demonstrando hidrólise do ATP e do ADP em linfócitos de pacientes com CCR e controle. $P < 0.05$, $n = 24$.

	Pacientes	Controle
Idade	entre 30 e 39 anos: 7,14% entre 40 e 49 anos: 7,14% entre 50 e 59 anos: 42,85% entre 60 e 69 anos: 21,42% entre 70 e 79 anos: 21,42%	entre 30 e 39 anos: 10% entre 40 e 49 anos: 20% entre 50 e 59 anos: 50% entre 60 e 69 anos: 10% entre 70 e 79 anos: 10%
Sexo	masculino: 50% feminino: 50%	masculino: 50% feminino: 50%
Estadiamento	Tis: 0% T1: 0% T2: 11,12% T3: 88,88% T4: 0% NX: 11,11% N0: 44,44% N1: 33,33% N2: 11,11% MX: 40% M0: 50% M1: 10%	NSA

Tabela 1. Características gerais dos pacientes e controles em porcentagem, incluindo idade em faixas estárias, sexo e o estadiamento tumoral dos pacientes.



Referências

DI VIRGILIO, F. et al. Purines, Purinergic Receptors, and Cancer. American Association for Cancer Research, 2012.

DI VIRGILIO, F.; ADINOLFI, E. Extracellular purines, purinergic receptors and tumor growth. *Oncogene*, v. 36, p. 1-11, 2017.

LEDDEROSE, C. et al. Purinergic P2X4 receptors and mitochondrial ATP production regulate T cell migration. *J Clin Invest*. 2018.

LÖFROOS, A.B. et al. Colorectal cancer-infiltrating T lymphocytes display a distinct chemokine receptor expression profile. *European Journal of Medical Research*, 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro, 2018.

Palavras-chave: Câncer Colorretal; Sistema Purinérgico; Linfócitos; Atividade Enzimática.

Financiamento

Bolsa concedida pela UFFS.