

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES COM CÂNCER DE COLO UTERINO

RAFAELA THAIS SCHALANSKI^{1,2}, ANNE LISS WEILER^{2,3}, ANGÉLICA ALMEIDA^{2,4},
DACIELE PAOLA PRECI^{2,5}, ANDRÉIA MACHADO CARDOSO⁶

1 INTRODUÇÃO

As neoplasias intraepiteliais cervicais são caracterizadas como lesões proliferativas com maturação anormal e atípicas de diversos graus, as quais tornam parte ou toda a espessura do epitélio escamoso cervical substituída. O Sistema Bethesda introduziu a nomenclatura dessas lesões separando-as em lesão intraepitelial de baixo grau (LSIL - Low Squamous Intraepithelial Lesion) e lesão intraepitelial de alto grau (HSIL- High Squamous Intraepithelial Lesion), além disso, estabelece que os resultados da citologia cervical com neoplasia intraepitelial grau 2 (NICII) e grau 3 (NICIII) devem ser classificadas como HSIL enquanto as neoplasias intraepiteliais de baixo grau 1 (NIC I) são classificadas como LSIL (SOLOMON D, et al., 2001; BRASIL, 2000). A maior parte dos resultados de exame com LSIL não são confirmados no próximo exame, regredindo espontaneamente, enquanto HSIL tem maior taxa de progressão para câncer de colo uterino. Este trabalho consiste em um estudo transversal de análise quantitativa que objetivou avaliar os parâmetros de estresse oxidativo e antioxidantes em pacientes com HSIL. O principal fator de risco para o surgimento dessas lesões é a infecção persistente por um dos tipos carcinogênicos do HPV, principalmente os HPV 16 e 18, cuja transmissão ocorre por meio do contato físico e sexual (SCHIFFMAN et al., 2016). O estresse oxidativo é o desbalanço entre a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a ação prejudicada dos antioxidantes endógenos e exógenos está relacionada com a carcinogênese (PISOSCHI; POP, 2015). Uma vez que, tal desbalanço é responsável por criar um ciclo vicioso no microambiente tumoral, onde a infecção pelo HPV aumenta a produção de EROs e reduz a ação de antioxidantes e, conseqüentemente, leva ao dano oxidativo e à formação tumoral (MURATA, 2018; SILVA et al., 2018).

¹ Acadêmica de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Chapecó, contato: rafaella.schalanski@estudante.uffs.edu.br

² Grupo de Pesquisa em Oncologia

³ Acadêmica de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Chapecó, contato: anne.weiler@estudante.uffs.edu.br

⁴ Acadêmica de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Chapecó, contato: angelica.almeida@estudante.uffs.edu.br

⁵ Acadêmica de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Chapecó, contato: daciele.preci@estudante.uffs.edu.br

⁶ Doutora em Bioquímica e docente dos cursos de Medicina e de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas, Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Chapecó. **Orientadora.**

2 OBJETIVOS

Avaliar parâmetros do estresse oxidativo em pacientes com diagnóstico de HSIL e comparar com grupo controle.

3 METODOLOGIA

Estudo transversal de análise quantitativa de avaliação do perfil de estresse oxidativo em pacientes diagnosticadas com HSIL e em pacientes saudáveis (grupo controle). Para isso, foram selecionadas 17 pacientes com HSIL recém-diagnosticados por exames de Papanicolau, seguido de biópsia realizados na Clínica da Mulher da Cidade de Chapecó-SC, que não haviam se submetido a qualquer tratamento prévio para essa patologia. A seleção das mulheres participantes ocorreu nos anos de 2019 a 2021. A faixa etária das pacientes com HSIL e grupo controle foi de 22 a 45 anos. As pacientes foram submetidas a uma punção periférica única de trinta mililitros (30 ml) de sangue total em tubos vacutainer com EDTA, com citrato de sódio, e em tubos sem anticoagulante. Posterior à coleta, as amostras foram separadas de plaquetas, linfócitos, soro, plasma e sangue total, congeladas em freezer a -80°C. Em outro momento foi realizado a determinação de proteínas totais por meio do método de Bradford (1976) com o uso do corante de “Coomassie brilliant blue” BG-250 e albumina bovina de soro bovino como padrão. Esse método foi necessário para determinar a atividade da catalase (CAT) e glutathione-S-transferase (GST) por mg de proteína.

A peroxidação lipídica foi estimada medindo-se TBARS em amostras de soro de acordo com um método modificado de Jentzsch et al (1996). Foi realizada a quantificação das atividades das enzimas antioxidantes CAT e GST; além da atividade da enzima mieloperoxidase (MPO). A vitamina C foi avaliada no soro de acordo com o método de Roe e Kuether (1943). Além disso também foi realizada a quantificação dos conteúdos tíois não-proteicos e proteicos. Após obter todos os resultados dessas análises foi comparado os resultados das pacientes com HSIL e grupo controle e realizado a análise estatística, e discutido com base em referencial teórico.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Encontram-se na literatura diversas pesquisas relacionando o estresse oxidativo, estado antioxidante e lesões intraepiteliais de alto grau (LOOI, et. al, 2008; KIM et al., 2003; KIM et al.,

2004; MALDONADO et al., 2006; JELIĆ, et al. 2018). Neste estudo foi possível verificar a alteração em dois parâmetros de estresse oxidativo em pacientes com lesões precursoras de câncer de colo uterino quando comparado com grupo de mulheres sem lesão cervical.

A atividade da catalase apresentou-se significativamente menor nas pacientes selecionadas com HSIL quando comparada com o grupo controle ($0,026 \pm 0,12$ vs $0,065 \pm 0,29$, respectivamente, $p < 0,05$). A CAT participa da neutralização da peroxidação lipídica, por isso, acredita-se que a diminuição nos níveis desta enzima neste estudo possa estar correlacionada ao aumento da lipoperoxidação que levaria à exaustão da atividade da enzima ou então por um consumo exacerbado pelas células neoplásicas.

Na pesquisa atual, foi encontrada uma discreta tendência de aumento dos níveis de atividade da GST nas pacientes com HSIL comparado com o controle, porém, não significativa estatisticamente, provavelmente pela restrição do número amostral. Já os valores da GST apresentaram uma pequena predisposição a serem maiores nas pacientes com HSIL quando comparado com o grupo controle, porém, sem diferença estatística significativa ($0,0368 \pm 0,02$ vs $0,0153 \pm 0,01$, respectivamente, $p \geq 0,05$). Ainda na avaliação de antioxidantes enzimáticos, Jelić et al. (2018) observaram um aumento significativo da atividade da GST em pacientes com neoplasia intraepitelial cervical e carcinoma de células escamosas quando comparado com o grupo de pacientes com nenhuma alteração no exame de papanicolau.

Na avaliação dos antioxidantes não enzimáticos foi verificado que os níveis de Vitamina C mostraram-se semelhantes entre ambos os grupos ($0,381 \pm 0,19$ pacientes com HSIL vs $0,493 \pm 0,13$ grupo controle, $p \geq 0,05$), assim como o nível de NPSH ($0,32 \pm 0,09$ mulheres com HSIL vs $0,44 \pm 0,089$, $p \geq 0,05$). Já os valores de PSH demonstraram-se significativamente menores nas pacientes com as lesões uterinas ($0,72 \pm 0,15$ pacientes com HSIL vs $0,98 \pm 0,21$ grupo controle, $p < 0,05$). Os valores que se apresentaram semelhantes podem estar relacionados à limitação do “n” amostral ou ao não consumo desses antioxidantes nessa etapa pré-cancerígena. A glutatona reduzida (GSH) é o principal excludente de radicais livres no organismo humano. A dosagem de tióis não proteicos (NPSH) avalia o conteúdo desse antioxidante no organismo, uma vez que, o grupamento tiol no meio intracelular mais abundante é a glutatona na sua forma reduzida (SOUZA, et al, 2014; TOWNSEND et al., 2003).

Os tióis proteicos (PSH) são considerados os principais responsáveis pela ação antioxidantes nas proteínas plasmáticas, e estão presentes nos resíduos de cisteína, os quais são suscetíveis a oxidação originando dissulfetos e ácido sulfúrico, formas que inativam a função proteica (MORAN, GUTTERIDGE QUINLAN, 2001). Nesse estudo houve uma diminuição significativa dos PSH, o que pode supor a existência de uma situação de estresse oxidativo maior nas pacientes com HSIL quando comparado ao controle.

Em relação aos lípidios, avaliou-se o dano oxidativo pela formação de produtos como o MDA, ou seja, um marcador do dano oxidativo, e que pode ser medido espectrofotometricamente pelo método de TBARS (MANOHARAN, KALANJIAPPAN, KAYALVIZHI, 2004). Os níveis de TBARS não apresentaram diferenças significativas entre os grupos analisados ($0,614 \pm 0,39$ mulheres com HSIL vs $0,557 \pm 0,32$ em mulheres sem HSIL, $p \geq 0,05$). Acredita-se que esse resultado possa ser devido ao aumento do consumo da CAT pelas células da lesão cervical que mascarou os valores da peroxidação lipídica, podendo os resultados para TBARS serem diferentes em outros estágios do desenvolvimento do câncer cervical, os quais não foram avaliados neste estudo. No entanto, compreende-se também que a amostragem baixa também pode ter interferido nos resultados obtidos.

A MPO é uma enzima proveniente de leucócitos, envolvidos em processos inflamatórios teciduais, que catalisa a formação de diversas espécies reativas oxidantes (ROMAN WENDLAND, POLANCZYK, 2008; AMBROSONE, 2000; HE et al., 2009; KODURU et al., 2010; DO CARMO et al., 2012). Assim, esta enzima participa da resposta imune inata agindo como um agente antimicrobiano e contribui durante a inflamação participando do dano tecidual, o que favorece a conversão de pró carcinogênicos em carcinogênicos e, desta forma, contribui para a progressão neoplásica (AMBROSONE, 2000; KLEBANOFF, 2005; ROMAN WENDLAND, POLANCZYK, 2008). As análises de MPO não revelaram diferença estatística significativa entre mulheres com HSIL e grupo controle ($2,145 \pm 0,91$ vs $1,719 \pm 0,75$, respectivamente, $p \geq 0,05$).

5 CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos neste trabalho observa-se um desequilíbrio entre os pró-oxidantes e antioxidantes em pacientes com lesão cervical precursora de câncer de colo uterino quando comparado com grupo de mulheres com exames de Papanicolau sem alterações. Ou seja, o estresse oxidativo pode estar intimamente relacionado com os estágios iniciais da carcinogênese. Isso pode ser observado pelos níveis diminuídos da enzima CAT em mulheres com HSIL quando comparado com o controle, uma vez que possa estar tendo nessas pacientes um maior consumo da CAT pelas células neoplásicas. Os valores significativamente menores para tióis proteicos indicam que nos pacientes com lesão precursora de carcinoma de colo uterino possa estar tendo um aumento de produção de radicais livres levando a um consumo dessas substâncias e consequentemente diminuição no organismo. No entanto, neste estudo foi observado também uma grande quantidade de medições não significativas. O que pode ter ocorrido devido à baixa amostragem. Porém, observa-se algumas divergências na literatura em relação a correlação entre estresse oxidativo e pacientes com HSIL. Dessa forma, esse estudo deve continuar com uma maior amostragem para uma melhor elucidação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer (INCA). Neoplasia Intra-epitelial Cervical - NIC. *Revista Brasileira de Cancerologia* 2000; 46(4): 355-57. Disponível em <https://rbc.inca.gov.br/site/arquivos/n_46/v04/pdf/normas_2.pdf>. Acesso em 05 ago 2021.
- COHEN, Paul A. et al. Cervical cancer. **The Lancet**, v. 393, n. 10167, p. 169-182, 2019.
- GLOBOCAN. **Cancer Today**, 2018. Disponível em: <[goo.gl/bAF5o5](https://globocon.inca.gov.br/)>. Acesso em: 13 abril. 2020.
- HWANG, Jong Ha; KIM, Mi Kyung; LEE, Jae Kwan. Dietary supplements reduce the risk of cervical intraepithelial neoplasia. **International Journal of Gynecologic Cancer**, v. 20, n. 3, 2010.
- JELIC, M. et al. Lipid peroxidation, antioxidative defense and level of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in cervical cancer patients. **J Med Biochem**, 37: 336–345, 2018.
- KIM, Y. T. et al. Relation between deranged antioxidant system and cervical neoplasia. **International Journal of Gynecologic Cancer**, v. 14, n. 5, 2004.
- LEE, G. J. et. al. **J Korean Med Sci.**; 20(2): 267–272, 2005.
- LEEKHA, A. et al. Vitamin C in synergism with cisplatin induces cell death in cervical cancer cells through altered redox cycling and p53 upregulation. **Journal of cancer research and clinical oncology**, v. 142, n. 12, p. 2503-2514, 2016.
- LOOI, M. et al. Oxidative damage and antioxidant status in patients with cervical intraepithelial neoplasia and carcinoma of the cervix. **European Journal of Cancer Prevention**, v. 17, n. 6, p. 555-560, 2008.
- MALDONADO, P. A. et al. Oxidative status in patients submitted to conization and radiation treatments for uterine cervix neoplasia. **Clinica chimica acta**, v. 366, n. 1-2, p. 174-178, 2006.
- MANJU, V.; KALAIVANI SAILAJA, J.; NALINI, N. Circulating lipid peroxidation and antioxidant status in cervical cancer patients: a case-control study. **Clinical Biochemistry**, 35(8), 621–625, 2002.
- MURATA, M. Inflammation and cancer. **Environmental health and preventive medicine**, v. 23, n. 1, p. 1-8, 2018.
- NAIDU, M. Smita K. et al. Oxidative stress and antioxidant status in cervical cancer patients. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 22, n. 2, p. 140-144, 2007.
- PISOSCHI, A. M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European journal of medicinal chemistry**, v. 97, p. 55-74, 2015.
- SCHIFFMAN, M. et al. Carcinogenic human papillomavirus infection. **Nature reviews Disease primers**, v. 2, n. 1, p. 1-20, 2016.
- SILVA, Gabriela Ávila Fernandes et al. Oxidative stress: therapeutic approaches for cervical cancer treatment. **Clinics**, v. 73, 2018.
- SOLOMON, Diane et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. **Jama**, v. 287, n. 16, p. 2114-2119, 2002.

Palavras-chave: neoplasia, HPV, estresse oxidativo.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES 2020-0280.

Financiamento: UFFS.