

ESTRESSE OXIDATIVO EM AMOSTRAS SANGUÍNEAS DE PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA

AMAURI DE OLIVEIRA^{[1][2]}, FILOMENA MARAFON^[3] DEBORA TAVARES DE
RESENDE E SILVA^{[2][4]}, MARCELO MORENO^{[2][4]}, SARAH FRANCO VIEIRA DE
OLIVEIRA MACIEL^{[2][4]}

1 INTRODUÇÃO

O câncer de mama destaca-se em países de média e baixa renda, onde são esperados um aumento da taxa de incidência nos próximos 10 anos, o que é preocupante devido à mortalidade relacionada (BARRIOS, REINERT, WERUTSKY, 2018). Para o Brasil nos anos de 2020 a 2022 são estimados mais de 60 mil novos casos anuais, o que demonstra a importância do assunto tanto para pesquisa como para o desenvolvimento de ações em saúde pública (INCA, 2020).

As Espécies Reativas de Oxigênio (EROS) são metabólitos produzidos de forma anaeróbia por organelas celulares ou por algum dano extracelular, como os causados por radiação. Em doses baixas essas moléculas levam a processos naturais de sobrevivência e renovação celular, entretanto em altas concentrações podem estar relacionadas a destruição celular e processos mutagênicos por oxidação do DNA, entre outras moléculas (GILL, PISKOUNOVA, MORRISON, 2016). Também existem moléculas antagonistas às EROS, que atuam nos mecanismos de controle e defesa, chamadas de antioxidantes. Essas substâncias podem ser produzidas tanto pelo nosso corpo, quanto ingeridas por meio da alimentação (SOSA et al., 2013; GILL, PISKOUNOVA, MORRISON, 2016). O desbalanço entre a atuação das EROS e dos antioxidantes pode levar a alterações sistêmicas, como interferência da permeabilidade das membranas celulares por meio da adição de grupos tióis e carbonilas, devido a alta reatividade das EROS com as proteínas e lipídios celulares, alterações no ciclo de apoptose, em mecanismos celulares de defesa, em vias de sinalização celular, entre outros (SOSA et al., 2013).

2 OBJETIVOS

[1] Acadêmico de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó, contato: amauri.de.oliveira@yahoo.com.br

[2] Grupo de Pesquisa: Grupo de Pesquisa em Oncologia

[3] Doutoranda em Bioquímica da Universidade Federal de Santa Catarina

[4] Professor(a) Doutor(a) do Curso de Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Chapecó, Orientador/co-orientador.

Caracterizar o perfil de Vitamina C, ácido tiobarbitúrico (TBARS), Tióis Proteicos (PSH) e Tióis não protéicos (NPSH) em amostras de sangue de pacientes com câncer de mama e em amostras controle.

3 METODOLOGIA

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas (CEP) da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) (parecer 3.421.380), com participação espontânea das convidadas e com assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Foram incluídas pacientes do sexo feminino ligadas ao serviço de Mastologia do Hospital Regional do Oeste (HRO), ou por contato prévio com serviços privados na região de Chapecó, entre os meses de dezembro de 2020 a junho de 2021. Como critério de exclusão foram retiradas do estudo pacientes providas de tratamento quimioterápico ou radioterápico prévio. Assim, foram selecionadas 22 pacientes. O grupo controle foi composto por 5 mulheres pareadas por média de idade com as pacientes, acompanhantes de pacientes no HRO, que não possuíam nenhum processo neoplásico ou outras comorbidades. Foram coletados 30 ml de sangue de cada participante, que foram processados para obtenção de plasma e soro. Após, todas as amostras foram congeladas em freezer a -80 graus para posterior realização dos ensaios bioquímicos: TBARS conforme Jentzsch *et al.* (1996), vitamina C conforme Jacques-Silva *et al.* (2001) e tióis conforme Ellman (1959). As análises estatísticas foram realizadas por meio do software GraphPad Prism 8.0, sendo elas Outliers de Grubbs, e teste T de Student não pareado.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas medições de TBARS observamos presença significativa nas amostras de pacientes com câncer de mama, com valores (média +/- desvio padrão) em torno de 75% maiores [105,8 +/- 28,3 η mol malondialdeído/ml (MDA/ml)] em relação ao grupo controle (31,87 +/- 10,44 η mol MDA/ml), com $p < 0,0001$, conforme demonstrado na Figura 1a. Em relação aos resultados de PSH os valores obtidos no grupo com câncer de mama (0,371 +/- 0,0177 η mol/ml) foram inferiores aos do grupo controle (0,564 +/- 0,07 η mol/m), com $p < 0,0009$, representando resultados 1/3 menores que o grupo controle (Figura 1b). Os valores de NPSH revelaram-se relativamente diminuídos nas pacientes com câncer de mama (0,08 +/- 0,008 μ mol/ml) em relação aos controles (0,094 +/- 0,0054 μ mol/ml), com $p < 0,0022$ (Figura 1c). Já as dosagens de Vitamina C nas pacientes com câncer de mama demonstraram média de valores aumentada em 3 vezes (30,09 +/- 7,893 g/L) comparada aos

controles (10,19 +/- 0,75 g/L), com $p < 0,0001$, podendo chegar a mais de 4 vezes em alguns indivíduos (Figura 1d).

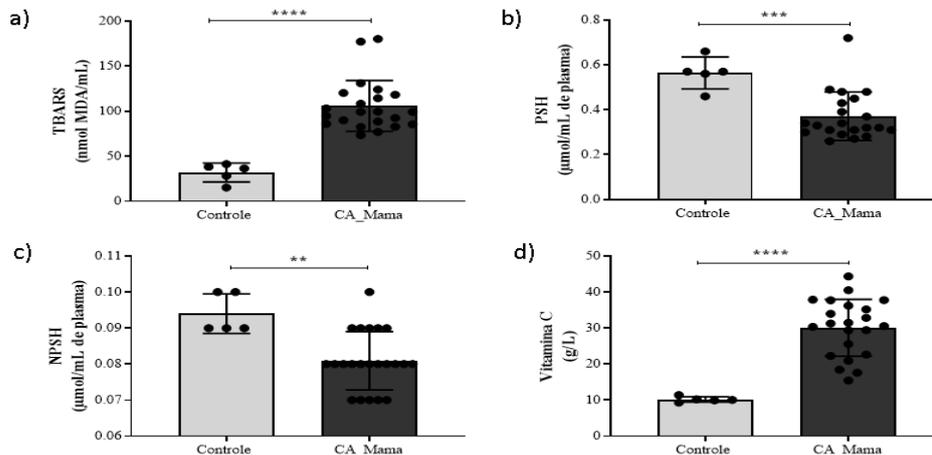
Nosso estudo demonstrou um aumento da presença de vitamina C em mulheres com câncer de mama. Diferente de estudos que demonstraram uma diminuição dos níveis séricos de vitamina C, com queda dos níveis conforme o avanço do estágio da doença (BADID et al., 2009). Esse efeito pode ser consequente de uma tentativa de balanço compensatório do ambiente oxidativo, ou deve-se a um movimento sinérgico oxidativo de um ambiente em constante renovação celular e liberação de íons por apoptose.

Os Tióis são moléculas responsáveis por diversas atividades fisiológicas em nosso organismo, envolvendo-se desde a multiplicação celular até a proteção delas contra a ação de EROS. Sua concentração pode alterar conforme a disponibilidade de oxigênio reativo, nitrogênio entre outras moléculas. Os Tióis não protéicos são os principais responsáveis pela contagem total de tióis, devido sua maior presença, tendo a glutatona como sua forma principal (YANG; GUAN, 2017).

A glutatona, além de seu papel como antioxidante, possui fisiologicamente importante papel no controle da proliferação celular, diferenciação e apoptose. Ela pode apresentar-se em estado reduzido ou oxidado, e reduzida possui propriedades anti apoptóticas (KENNEDY et al., 2020). Um estudo demonstrou que níveis de glutatona diminuíram em amostras de sangue de pacientes com câncer de mama, sendo a queda mais significativa conforme estágios mais avançados da doença. De forma similar, nosso estudo obteve diminuição dos níveis séricos de Tióis não proteicos e proteicos. Uma das explicações para a diminuição desses níveis é devido a tentativa de controle da expansão celular, que inicia com a redução da forma reduzida da glutatona, que desenvolve uma cascata apoptótica, de forma a buscar o equilíbrio daquele microambiente, a queda dessas substâncias indica uma diminuição da capacidade antioxidante do plasma (YEH et al., 2006).

O TBARS é um produto da peroxidação de lipídios. Estudos com ele e seus similares demonstraram diversas atividades imunológicas, anti-inflamatórias e até a produção de “*sintons*” antitumorais, sendo um dos seus principais mecanismos a supressão do Fator 1 induzível por hipóxia (BARAKAT et al., 2017). A peroxidação de lipídios é um mecanismo de lesão celular importante, presente em maior taxa basal em células lábeis, já em células com menor tempo de vida ou em células tumorais a quantidade basal é menor (DIANZANI, 1993). Em nosso estudo, observamos um importante aumento do TBARS nas amostras de câncer de mama, indicando desajuste no sistema oxidativo dessas pacientes, o que indica menor taxa de apoptose das células tumorais.

Figura 1. Gráficos comparativos de medições em amostras de sangue de TBARS, PSH, NPSH e Vitamina C entre pacientes com Câncer de Mama e Controles.



Legenda: 1a) Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) - pacientes (CA_mama) média 105,8 +/- 28,3 η mol MDA/ml; controles média 31,87 +/- 10,44 η mol MDA/ml $p < 0,0001****$. 1b) Tióis Protéicos (PSH) - pacientes média 0,37 +/- 0,1077 η mol/ml; controles média 0,564 +/- 0,07 η mol/ml $p < 0,0009***$. 1c) Tióis Não Protéicos (NPSH) - pacientes média 0,08 +/- 0,008 μ mol/ml; controles média 0,094 +/- 0,0054 μ mol/ml $p < 0,0022**$. 1d) Vitamina C - pacientes média 30,09 +/- 7,893 g/L; controles média 10,19 +/- 0,75 g/L $p < 0,0001****$.

5 CONCLUSÃO

Concluimos que o câncer de mama é um fator desencadeante do desequilíbrio oxidativo que leva ao dano celular local, observamos também alterações das respostas fisiológicas das substâncias medidas devido a alteração tumoral local. Sugerimos que a Vitamina C pode estar aumentada como um mecanismo de reparação das diversas moléculas oxidativas encontradas, ou como um fator sinérgico aos efeitos oxidativos locais devido a sua dualidade. Em relação aos Tióis, o aumento nas pacientes com câncer de mama pode estar ligado a uma primeira resposta como mecanismo apoptótico ao tumor, por meio indireto da Glutaciona reduzida, que é a principal forma dos tióis não proteicos. Além disso, a elevação do TBARS pode estar relacionada a um processo de estabilização das células tumorais, similar às células lábeis em nosso corpo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BADID, Naima et al. Oxidant/Antioxidant Status, Lipids and Hormonal Profile in Overweight Women with Breast Cancer. Pathology & Oncology Research, [S.L.], v. 16, n. 2, p. 159-167, 3 set. 2009. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12253-009-9199-0>.

BARAKAT, Assem et al. Synthesis of thiobarbituric acid derivatives: in vitro α -glucosidase inhibition and molecular docking studies. *Bioorganic Chemistry*, [S.L.], v. 75, p. 99-105, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bioorg.2017.09.003>.

BARRIOS, Carlos H. et al. Global Breast Cancer Research: moving forward. *American Society Of Clinical Oncology Educational Book*, [S.L.], n. 38, p. 441-450, maio 2018. American Society of Clinical Oncology (ASCO). http://dx.doi.org/10.1200/edbk_209183.

DIANZANI, Mario Umberto et al. Lipid peroxidation and cancer. *Critical Reviews In Oncology/Hematology*, [S.L.], v. 15, n. 2, p. 125-147, out. 1993. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/1040-8428\(93\)90052-6](http://dx.doi.org/10.1016/1040-8428(93)90052-6).

ELLMAN, G.D. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82:70-72, 1959.

GILL, Jennifer G. et al. Cancer, Oxidative Stress, and Metastasis. *Cold Spring Harbor Symposia On Quantitative Biology*, [S.L.], v. 81, p. 163-175, 2016. Cold Spring Harbor Laboratory. <http://dx.doi.org/10.1101/sqb.2016.81.030791>.

Instituto Nacional do Câncer. Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2019

JACQUES-SILVA, Maria Caroline et al. Diphenyl diselenide and ascorbic acid changes deposition of selenium and ascorbic acid in liver and brain of mice. *Pharmacology & Toxicology*, v. 88, n. 3, p. 119-125, 2001.

JENTZSCH, A M. et al. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radical Biology and Medicine*, EUA, v. 20, n. 2, p. 251-256, 1996. (JENTZSCH et al., 1996)

KENNEDY, Luke et al. Role of Glutathione in Cancer: from mechanisms to therapies. *Biomolecules*, [S.L.], v. 10, n. 10, p. 1429, 9 out. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/biom10101429>.

SOSA, Venus et al. Oxidative stress and cancer: an overview. *Ageing Research Reviews*, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 376-390, jan. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arr.2012.10.004>.

YANG, Yang et al. Non-protein thiol imaging and quantification in live cells with a novel benzofurazan sulfide triphenylphosphonium fluorogenic compound. *Analytical And Bioanalytical Chemistry*, [S.L.], v. 409, n. 13, p. 3417-3427, 29 mar. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-017-0285-y>.

YEH, Chih-Ching et al. A study of glutathione status in the blood and tissues of patients with breast cancer. *Cell Biochemistry And Function*, [S.L.], v. 24, n. 6, p. 555-559, 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cbf.1275>.

Palavras-chave: Câncer de Mama, Estresse Oxidativo, Ácido Ascórbico, Ácido tiobarbitúrico, Glutathiona.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES -2020-0170

Financiamento: Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS).