



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

**GABRIELA NOGUEIRA MATSCHINSKI
TAMÍRES HILLESHEIM MITTELMANN**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES E DA
MIELOPEROXIDASE EM PACIENTES COM
ADENOCARCINOMA COLORRETAL ESPORÁDICO**

CHAPECÓ

2020

**GABRIELA NOGUEIRA MATSCHINSKI
TAMÍRES HILLESHEIM MITTELMANN**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES E DA
MIELOPEROXIDASE EM PACIENTES COM
ADENOCARCINOMA COLORRETAL ESPORÁDICO**

Trabalho de Curso de Graduação apresentado como requisito para a obtenção do grau de Médico da Universidade Federal da Fronteira Sul.

Orientadora. Prof.^a Dr.^a Daniela Zanini

CHAPECÓ

2020

GABRIELA NOGUEIRA MATSCHINSKI
TAMÍRES HILLESHEIM MITTELMANN

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES E DA
MIELOPEROXIDASE EM PACIENTES COM ADENOCARCINOMA
COLORRETAL ESPORÁDICO

Trabalho de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de aprovação
no respectivo componente da grade do curso de Medicina da Universidade Federal da
Fronteira Sul - *campus* Chapecó.

Orientadora: **Prof.^a Dr.^a Daniela Zanini**

Este trabalho de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 28/10/2020

BANCA EXAMINADORA



Prof.^a Dr.^a Daniela Zanini (UFFS/Chapecó)
Presidente e Orientadora



Prof.^a Dr.^a Aline Mânica (UnoChapecó)
Membro da Banca Avaliadora



Prof.^a Dr.^a Andreia Machado Cardoso (UFFS/Chapecó)
Membro da Banca Avaliadora

RESUMO

O câncer colorretal (CCR) é o segundo câncer mais incidente em mulheres e o terceiro mais incidente em homens, tanto no Brasil quanto no mundo. Para o ano de 2020 são estimados cerca de 1 milhão de óbitos por CCR, sendo que a maioria dos casos dessa neoplasia são esporádicos, ou seja, não apresentam padrão de herança familiar, e o principal subtipo histológico diagnosticado é o adenocarcinoma. O desenvolvimento do CCR está intimamente relacionado com fatores ambientais, além do significativo envolvimento do estresse oxidativo na sua patogênese. Ainda não está bem estabelecido se o estresse oxidativo em células tumorais resulta de um aumento na produção de oxidantes ou de falhas nos mecanismos de defesa. Entretanto, uma vez que as células tumorais estão frequentemente em hipóxia, a regulação de suas defesas antioxidantes está possivelmente alterada. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade de enzimas antioxidantes e da mieloperoxidase em pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico. Para o estudo foram selecionados 19 pacientes com CCR e 10 indivíduos saudáveis para o grupo controle. A atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e glutatona S-transferase (GST), assim como da mieloperoxidase (MPO) foram avaliadas. A coleta de sangue dos pacientes foi realizada nas dependências do Hospital Regional do Oeste, localizado em Chapecó/SC. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), sob protocolo número: 87508918.4.0000.5564. As atividades da SOD e da GST foram significativamente maiores no grupo de pacientes com CCR em relação ao grupo controle. No que tange à MPO, sua atividade foi estatisticamente menor no grupo de pacientes com CCR em comparação com o grupo controle ($p < 0,05$). O aumento da atividade da SOD e da GST, em pacientes com CCR, sugere a existência de um mecanismo compensatório ao aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) no ambiente tumoral. Assim, a maior disponibilidade de substrato para essas enzimas estaria incrementando suas atividades. Além disso, as ações da GST também estão associadas a vias de sinalização do desenvolvimento tumoral e a mecanismos de resistência aos quimioterápicos, fato que poderia estar favorecendo o desenvolvimento do CCR nesses pacientes, assim como poderia prejudicar a eficiência dos protocolos terapêuticos com agentes antineoplásicos. Em relação à MPO, mesmo que sua atividade esteja envolvida em processos inflamatórios e carcinogênicos, ela parece desempenhar um papel protetor no CCR. Sua atividade basal está relacionada à defesa imune contra tumores e a sua deficiência está ligada a um aumento na incidência de tumores do cólon e à inflamação crônica não ligada a patógenos. Ainda, o aumento do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), substrato da MPO, está relacionado com a progressão do CCR. Os resultados deste estudo demonstram que a alteração na atividade das enzimas estudadas pode estar diretamente associada à progressão do CCR, fazendo com que elas sejam importantes marcadores biológicos associados ao desenvolvimento de tumores.

Palavras-chave: Neoplasias colorretais. Estresse oxidativo. Superóxido dismutase. Glutaciona transferase. Mieloperoxidase.

ABSTRACT

Colorectal cancer (CRC) is the second most incident cancer in women and the third most incident in men, both in Brazil and worldwide. For 2020, about 1 million deaths due to CRC are estimated, with the majority of cases of this neoplasm being sporadic, that is, they do not have a family history and the main histological subtype diagnosed is adenocarcinoma. The development of CRC is closely related to environmental factors, in addition to the involvement of oxidative stress in its pathogenesis. It is not yet well established whether oxidative stress in tumor cells results from an increase in the production of oxidants or from defects in defense mechanisms. However, since tumor cells are often in hypoxia, the regulation of their antioxidant defenses is altered. Thus, the aim of this study was to evaluate the activity of antioxidant enzymes and myeloperoxidase in patients with sporadic colorectal adenocarcinoma. For the study, 19 patients with CRC and 10 healthy subjects were selected for the control group. The activity of the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD) and glutathione S-transferase (GST), as well as myeloperoxidase (MPO) were evaluated. The collection of blood from the patients was carried out in the facilities of the Hospital Regional do Oeste, located in Chapecó/SC. The project was approved by the Human Research Ethics Committee of the Federal University of Fronteira Sul (UFFS), under protocol number: 87508918.4.0000.5564. SOD and GST activities were greater in the group of patients with CRC compared to the control group. Regarding MPO, its activity was statistically lower in the group of patients with CRC compared to the control group ($p < 0.05$). The increase in the activity of SOD and GST, in patients with CRC, considers the existence of a compensatory mechanism to the increase in the production of reactive oxygen species (ROS) in the tumor environment. Thus, the greater availability of substrate for these enzymes would be increasing its activities. In addition, the actions of the GST are also associated with the signaling pathways of tumor development and a mechanism of resistance to chemotherapy, a fact that could be favoring the development of CRC in these patients, as well as it could impair the efficiency of therapeutic protocols with antineoplastic agents. Regarding MPO, even though its activity is involved in inflammatory and carcinogenic processes, it appears to be a protective role in CRC. Its basal activity is related to immune defense against tumors and its deficiency is linked to an increase in the incidence of colon tumors and to chronic inflammation not linked to pathogens. Also, the increase in hydrogen peroxide (H_2O_2), substrate of MPO, is related to the progression of the CRC. The results of this study demonstrate that a change in the activity of the studied enzymes may be associated with the progression of CRC, making them important biological markers associated with the development of tumors.

Keywords: Colorectal Neoplasms. Oxidative stress. Superoxide dismutase. Glutathione transferase. Myeloperoxidase.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.....	13
Figura 2.....	16
Figura 3.....	16
Figura 4.....	17
Figura 5.....	17

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.....	15
---------------	----

LISTA DE SIGLAS

AAP	Aminoantipirina
CAT	Catalase
CCR	Câncer colorretal
CDNB	2,4-Dinitroclorobenzeno
EROS	Espécies reativas de oxigênio
GPx	Glutationa peroxidase
GSH	Glutationa redutase
GST	Glutationa S-transferase
MPO	Mieloperoxidase
MRP	Proteína de resistência a múltiplas drogas
OMS	Organização Mundial da Saúde
Pgp	Glicoproteína-P
SOD	Superóxido dismutase
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFFS	Universidade Federal da Fronteira Sul

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 METODOLOGIA	12
3 RESULTADOS	15
4 DISCUSSÃO	18
5 CONCLUSÃO	23
REFERÊNCIAS	24

1 INTRODUÇÃO

De acordo com as estimativas mundiais do projeto Globocan (2019) e da Agência Internacional para Pesquisa em Câncer, da Organização Mundial da Saúde (OMS), no ano de 2020, são previstos, mundialmente, quase 18 milhões de novos casos de câncer. Além disso, calcula-se que a doença causará a morte de aproximadamente 9,8 milhões de pacientes em todo o mundo no mesmo ano (GLOBOCAN, 2019).

Diante desse contexto estarrecedor, o câncer colorretal (CCR) é apontado como o segundo câncer mais incidente em mulheres e o terceiro mais incidente em homens, em todo o mundo. Assim, para o ano de 2020, espera-se mais de 1,8 milhões de novos casos de CCR, acarretando cerca de 1 milhão de mortes por essa neoplasia (GLOBOCAN, 2019). No Brasil, o CCR é um dos tumores mais frequentemente diagnosticados na população, seguindo a tendência mundial, com estimativa de 20 mil novos casos em mulheres e 20 mil novos casos em homens para o ano de 2020 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

Em relação aos obituários por CCR em nosso país, os dados mais recentes datam de 2018, e deixam registrados 9.995 óbitos em mulheres e 9.608 óbitos em homens (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). Ademais, vale destacar que as maiores taxas de incidência de CCR estão nas regiões Sudeste e Sul do país e sua ocorrência aumenta com a idade, principalmente, a partir dos 60 anos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

Segundo dados do Sistema de Informações de Mortalidade (SIM) do Ministério da Saúde, no estado de Santa Catarina (SC), as neoplasias de cólon, ânus e reto corresponderam a 7,69% e 6,81% dos óbitos por câncer em mulheres e homens, respectivamente, no período entre 2014 e 2018. Isto o torna um dos cânceres com maior taxa de mortalidade na população. No município de Chapecó, em 2017, o CCR foi responsável por 9,4% das mortes por neoplasia.

Estima-se que em 80% dos casos o CCR seja esporádico, ou seja, de caráter não familiar (OINES et al., 2017). Nessas situações, a história natural do CCR baseia-se na sequência adenoma-câncer, pois majoritariamente apresentam origem em pólipos adenomatosos (lesões benignas) que sofrem transformação maligna num longo período de tempo (OINES et al., 2017). Vale destacar que o subtipo histológico adenocarcinoma é o mais incidente na população (BOSMAN, 2010; HUGEN et al., 2015).

Quanto aos fatores de risco, o CCR pode se desenvolver a partir de fatores genéticos e ambientais (HADJIPETROU et al., 2017). Em relação aos aspectos ambientais, evidências

sugerem fortemente a influência dos hábitos alimentares no desenvolvimento do CCR, especialmente, o consumo de carne vermelha (KERR; ANDERSON; LIPPMAN, 2017; HADJIPETROU et al., 2017; MURPHY et al., 2019) e a suplementação de ferro heme, o qual está presentes nas carnes e em seus subprodutos (SASSO; LATELLA, 2018). Além disso, a obesidade, o diabetes e o sedentarismo também são fatores de risco importantes para o surgimento dessa neoplasia (HADJIPETROU et al., 2017).

Nesse sentido, a patogênese do CCR parece estar diretamente relacionada à ação de espécies reativas de oxigênio (EROs) na mucosa intestinal (CARINI et al., 2017). As EROs, tais como o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical hidroxila (OH^{\cdot}) e outros oxidantes, formam-se fisiologicamente em proporções controladas por mecanismos de defesa celular. Porém, em condições patológicas, essa produção pode aumentar substancialmente, resultando em estresse oxidativo (SCHMATZ, 2011).

Quando há um favorecimento à produção de EROs e um quadro de estresse oxidativo é instalado, a transformação progressiva de células para a sua forma maligna ocorre mais facilmente, devido a um aumento na frequência de mutações pelo danos ao DNA e, conseqüentemente, há aumento no risco de desenvolvimento de neoplasias (GILL; PISKOUNOVA; MORRISON, 2016; SAJADIMAJD; KHAZAEI, 2018; KLAUNIG, 2019;). Ademais, diversos estudos têm demonstrado o envolvimento do estresse oxidativo tanto nos processos de iniciação, quanto na promoção e na progressão tumoral (TOYOKUNI et al., 1995; KLAUNIG; KAMENDULIS, 2004; MALDONADO et al., 2006; FARIAS et al., 2011; CARINI, 2017; KLAUNIG, 2019).

Ainda não está bem estabelecido se o estresse oxidativo em células tumorais resulta de um aumento na produção de oxidantes ou de falhas nos mecanismos de defesa antioxidante (STONE et al., 2014). Entretanto, uma vez que as células tumorais estão frequentemente em hipóxia (OLIVEIRA; ALVES, 2002), a regulação de suas defesas antioxidantes está possivelmente alterada.

Entre os antioxidantes enzimáticos, o sistema composto pela atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) é o mais eficiente (ZANINI et al., 2012), enquanto que o sistema da glutatona é o mais abundante nas células humanas (OESTREICHER; MORGAN, 2019). Ainda destaca-se a atividade da enzima mieloperoxidase (MPO), responsável por importante papel oxidativo de defesa em neutrófilos (ARATANI, 2018).

A SOD é responsável por catalisar a conversão do radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) em

peróxido de hidrogênio (H_2O_2) ou oxigênio molecular, produtos estes, menos reativos (HAO; LIU, 2019). Ela é considerada a primeira linha de defesa antioxidante enzimática e, nos mamíferos, apresenta-se sob três isoformas: citoplasmática (SOD1), mitocondrial (SOD2) e extracelular (SOD3), sendo que todas elas requerem metal catalítico, cobre ou manganês, para sua ativação (MIAO; ST CLAIR, 2009). A SOD juntamente com a CAT atuam em sinergismo e refletem a capacidade celular de remover EROS e proteger os tecidos dos danos que estas podem causar (HAO; LIU, 2019).

A GST, por sua vez, faz parte de uma família de enzimas que desintoxicam uma ampla gama de substâncias prejudiciais, como EROS e xenobiontes (KLUSEK; GŁUSZEK; KLUSEK, 2014). Elas estão presentes em todas as células epiteliais e tecidos do trato gastrointestinal humano e atuam como uma primeira linha de defesa contra xenobióticos e carcinógenos ingeridos (CHATTERJEE; GRUPTA, 2018).

Em relação à MPO, ela é membro do grupo das heme peroxidases, sendo distinguida das demais por uma propriedade única de oxidar o ânion cloreto (Cl^-) a ácido hipocloroso (HClO) em condições fisiológicas, além de produzir outras espécies oxidativas, como ácido hipobromoso e hipotiocianoso. Essa enzima oxidante é expressa em leucócitos, principalmente nos grânulos azurófilos de neutrófilos, atuando especialmente como agente microbicida (VANHAMME et al., 2018). Entretanto, a MPO parece possuir também um importante papel na iniciação e progressão tumoral, e apresentar caráter protetor ou prejudicial, a depender dos níveis de sua atividade do ambiente tumoral (RONCUCCI et al., 2008; DROESER et al., 2013; VANHAMME et al., 2018).

Sendo assim, considerando que: a) o CCR é um problema de saúde pública mundial pelas elevadas taxas de incidência, morbidade e mortalidade associadas; b) os pacientes acometidos por doenças neoplásicas apresentam uma série de alterações fisiológicas, entre elas, um desequilíbrio na produção de agentes antioxidantes e pró-oxidantes; c) o processo de estresse oxidativo está correlacionado com a iniciação e progressão tumoral; d) as enzimas SOD, GST e MPO possuem papel importante no balanço oxidativo; torna-se de grande valia analisar a atividade dessas enzimas em pacientes com CCR atendidos no Hospital Regional do Oeste (HRO) no município de Chapecó/SC.

2 METODOLOGIA

O estudo avaliou a atividade das enzimas antioxidantes SOD e GST e a atividade da MPO em 19 indivíduos recém diagnosticados com CCR esporádico. As mesmas análises foram realizadas em um grupo controle, composto por 10 indivíduos saudáveis, sem histórico de câncer, sem comorbidades e com idade semelhante a dos pacientes.

Os critérios de inclusão consistiram em pacientes voluntários com idade igual ou superior a dezoito anos (18), diagnosticados por médico oncologista ou proctologista com CCR esporádico do subtipo adenocarcinoma conforme CID 11, sem história familiar da doença e que não tivessem realizado a remoção cirúrgica do tumor ou iniciado o tratamento farmacológico antineoplásico. Os indivíduos do grupo controle selecionados foram voluntários com idade igual ou superior a dezoito (18) anos e sem diagnóstico de CCR.

Foram excluídos os pacientes que apresentavam qualquer outra patologia fora o CCR esporádico do subtipo histológico adenocarcinoma e os indivíduos do grupo controle que apresentavam qualquer tipo de patologia ativa aguda ou crônica, e/ou que estivessem fazendo uso de qualquer medicamento; e/ou que apresentassem história familiar da doença. A coleta de dados do prontuário e de material biológico ocorreram no Setor de Oncologia do HRO, localizado no município de Chapecó/SC. O período de realização das coletas foi de setembro de 2018 a dezembro de 2019.

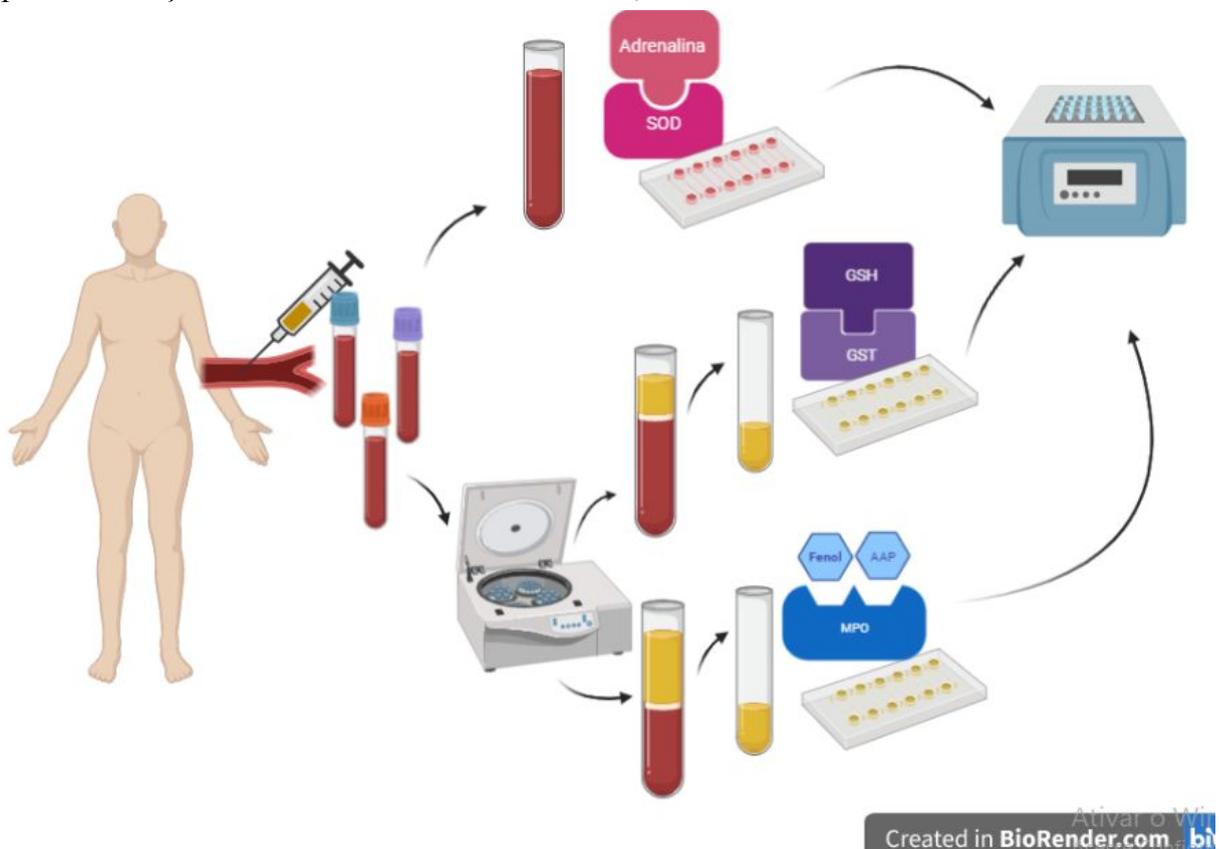
Para a realização dos ensaios enzimáticos, foi realizada uma coleta de sangue única, no volume de 12 mL, por profissional de saúde capacitado, através de punção venosa. As análises bioquímicas e moleculares foram realizadas nos Laboratórios de Pesquisa da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), *campus* Chapecó/SC. Para as coletas de sangue foram utilizados tubos *vacutainer* contendo EDTA (para obtenção de sangue total e avaliação da atividade da SOD), tubos sem anticoagulante (para separação do soro e avaliação da atividade da GST) e tubos contendo citrato de sódio (para obtenção de plasma e avaliação da atividade da MPO). As amostras de sangue total, soro e plasma foram congeladas em freezer a -80°C até a realização dos protocolos experimentais.

A atividade da SOD foi determinada pelo sistema de detecção adrenalina-adenocromo de acordo com MISRA e FRIDOVICH (1972). A atividade da GST foi verificada através da adição da enzima glutathione reduzida (43,5mM), solução para GST (20mL de TFK, 10,5 mL de H₂O destilada e EDTA 2,5mM) e 2,4-Dinitroclorobenzeno (CDNB), com posterior leitura cinética de 30 minutos em comprimento de onda de 340nm. O conteúdo protéico da amostra

foi determinado pelo método de Coomassie Blue, usando albumina sérica bovina como padrão, de acordo com o descrito por Bradford (1976). Por fim, a atividade da MPO foi avaliada através da medida de quinoneimina - produto colorido resultante de sua ação catalisadora do acoplamento oxidativo de fenol e aminoantipirina (AAP), em presença de H_2O_2 como agente oxidante, utilizando-se amostra de leucócitos do plasma. Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

Na Figura 1 temos a representação esquemática das amostras biológicas utilizadas e a metodologia para avaliação das atividades enzimáticas que foram realizadas neste estudo.

Figura 1 – Representação esquemática das amostras biológicas e do processo metodológico para a avaliação das atividades das enzimas SOD, GST e MPO.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Em relação às análises estatísticas, os dados primeiramente foram testados quanto a sua normalidade e na sequência foi aplicado o teste *t-student* independente. Para a confecção dos gráficos, foi utilizado o programa *GraphPad Prism 7*. Foi realizada a análise de correlação para as variáveis pesquisadas, através da correlação de Pearson. O nível de significância utilizado foi de 0,05 ($p < 0,05$).

No que se refere aos aspectos éticos, destaca-se que o projeto de pesquisa que originou este artigo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), sob protocolo número: 87508918.4.0000.5564. Além disso, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi assinado pelos participantes antes da coleta do material biológico e das informações do prontuário.

3 RESULTADOS

Neste estudo, dos 19 pacientes com CCR que foram analisados, 57,9% (n=11) eram homens e 42,1% (n=8) eram mulheres e a idade média dos pacientes foi de 60 anos ($59,6 \pm 8,7$). No grupo controle, dos 10 indivíduos participantes, 50% (n=5) eram homens e 50% (n=5) eram mulheres, com idade média de 56 anos ($55,8 \pm 11,1$). Sobre as características étnico-raciais, 73,7% (n=14) dos pacientes se autodeclararam brancos, 21% (n=4) se declararam pardos e 5,3% se autodeclararam amarelos (n=1). Em relação ao tabagismo, no grupo de pacientes 42,1% são tabagistas ou ex-tabagistas, ou seja, 8 pacientes que participaram do estudo fizeram ou fazem uso de tabaco diariamente. No que diz respeito ao estadiamento do tumor, baseado na classificação TNM, 15 pacientes possuíam esse dado descrito nos prontuários médicos e desses, o estadiamento I correspondeu a 6,7% (n=1); o II a 46,7% (n=7); o III a 33,3% (n=5) e o IV a 13,3% (n=2). As características gerais dos indivíduos participantes do estudo estão representadas abaixo, na Tabela 1.

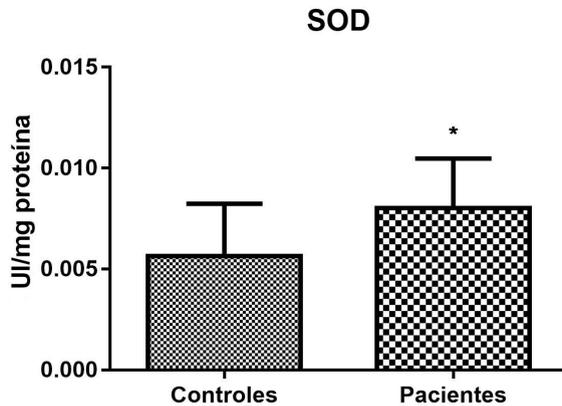
Tabela 1 – Características dos pacientes e controles.

	Pacientes		Controles	
	Homens	Mulheres	Homens	Mulheres
Número de participantes	11	8	5	5
Idade média	59	57	61	51
Raça				
Parda	2	2	-	1
Branca	9	5	4	4
Amarela	-	1	-	-
Prática regular de atividade física	3	3	3	5
Tabagismo	5	3	1	-
Estadiamento				
I	1	-	-	-
II	6	1	-	-
III	1	4	-	-
IV	-	2	-	-
Não classificado	4	-	-	-

A atividade da SOD no sangue total está representada na Figura 2. Foi observado um aumento de, aproximadamente, 43% na atividade da enzima SOD em pacientes com CCR ($0,0080 \pm 0,0006$) quando comparado com o grupo controle ($0,0056 \pm 0,0008$) ($p < 0,05$). Em relação à GST, houve um aumento de 11% em sua atividade no grupo de pacientes ($0,0049 \pm 0,0002$) em comparação aos controles ($0,0044 \pm 0,0001$), como pode ser observado na Figura 3 ($p < 0,05$). Na Figura 4 está a representação gráfica da atividade da MPO. Uma diminuição

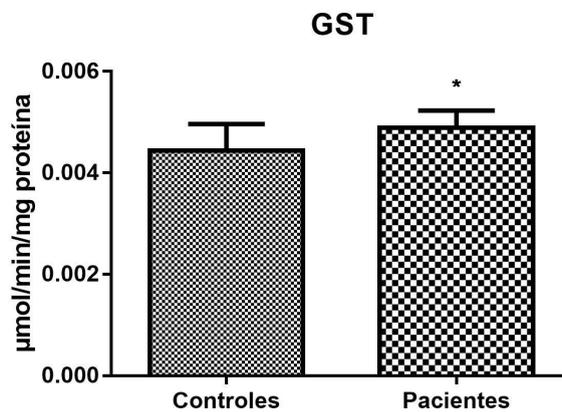
de 26% na atividade da MPO nos pacientes ($2,06 \pm 0,18$) em relação aos controles ($2,79 \pm 0,26$) foi observada ($p < 0,05$). Por fim, a compilação dos resultados das alterações nas atividades enzimáticas, observadas no grupo de pacientes com CCR em relação ao grupo controle, está apresentada esquematicamente na Figura 5.

Figura 2 – Atividade da SOD em sangue total de pacientes e controles com CCR.



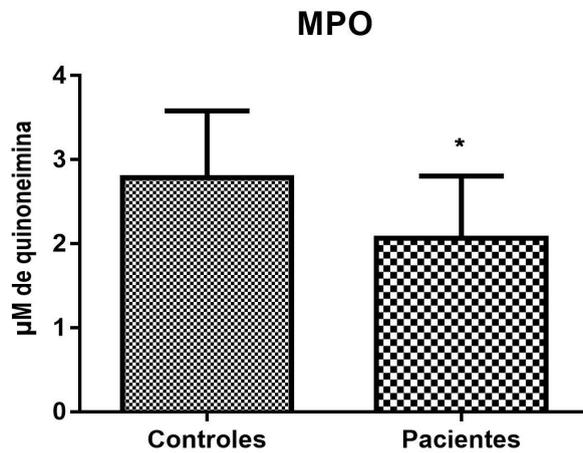
Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão ($n=19$). *Indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo de pacientes com CCR ($p < 0,05$).

Figura 3 – Atividade da GST no soro de pacientes e controles com CCR.



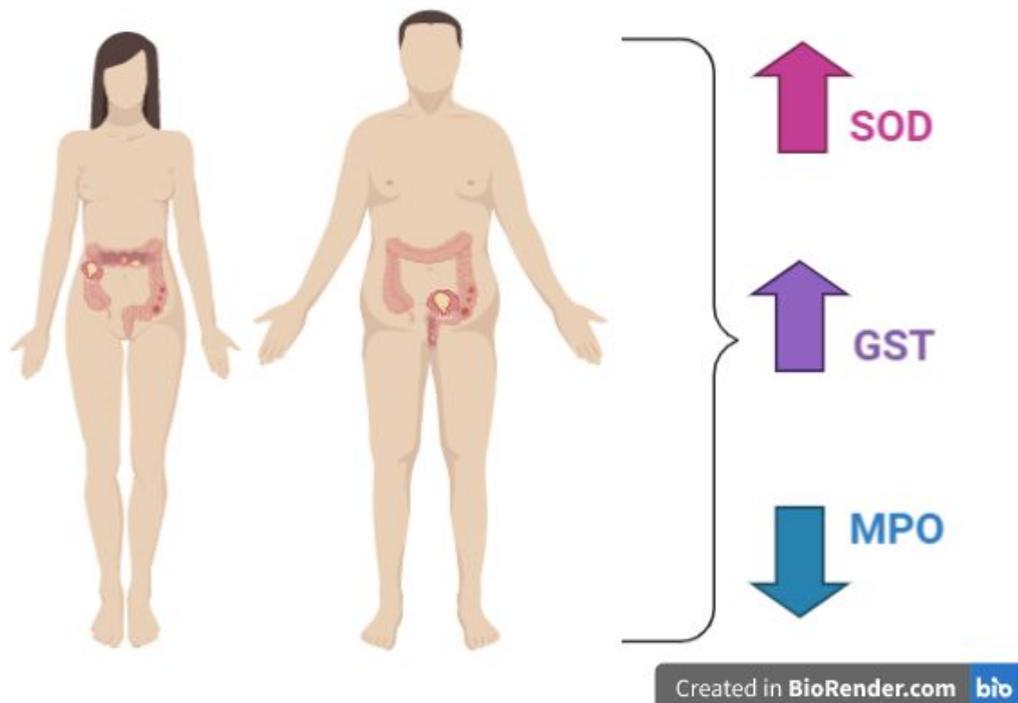
Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão ($n=19$). *Indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo de pacientes com CCR ($p < 0,05$).

Figura 4 – Atividade da MPO no plasma de pacientes e controles com CCR.



Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão (n=19). *Indica diferença significativa entre o grupo controle e o grupo de pacientes com CCR ($p < 0,05$).

Figura 5 – Representação esquemática das alterações observadas na atividades das enzimas SOD, GST e MPO no grupo de pacientes com câncer colorretal em relação ao grupo controle.



4 DISCUSSÃO

Os pacientes abordados neste estudo têm diagnóstico de CCR e as características gerais dos indivíduos estudados são semelhantes às observadas em pesquisas similares. A média de idade dos pacientes foi de 60 anos e esse dado corrobora com a literatura, a qual descreve a ocorrência da maioria dos diagnósticos de CCR na faixa etária compreendida entre 60 e 70 anos, visto que o desenvolvimento dessa doença está relacionado com a idade avançada dos indivíduos (BULUS et al., 2018; GAYA-BOVER et al., 2020; GOPĀEVIĆ et al., 2013; KOCOT et al., 2013; MALINOWSKA et al., 2015; ŚCIBIOR et al., 2008; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019). Em relação ao gênero dos pacientes, apesar desta neoplasia ser mais incidente em mulheres, pelos dados de estimativas mundiais e nacionais (GLOBOCAN, 2019; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019), em nosso estudo a maioria dos pacientes foram homens. Dados semelhantes aos nossos foram observados em estudos desenvolvidos na Sérvia, Polônia e Turquia e esses resultados podem estar relacionados com o fato desses estudos não apresentarem caráter essencialmente epidemiológico (GOPĀEVIĆ et al., 2013; MALINOWSKA et al., 2015; BULUS et al., 2018).

Nosso estudo avaliou a atividade de três importantes complexos enzimáticos endógenos envolvidos no balanço redox, sendo eles: SOD, GST e MPO. A literatura descreve que o *status* antioxidante na mucosa intestinal tumoral é maior em comparação com a mucosa saudável, provavelmente em função do aumento de processos oxidativos nos tecidos doentes (KOCOT et al., 2013). Nesse contexto, as atividades da SOD, da GST e da MPO podem fornecer dados indiretos sobre a atividade da doença, representando potenciais biomarcadores diagnósticos no CCR, haja vista a importância do estresse oxidativo no mecanismo fisiopatológico dessa neoplasia (CARINI et al., 2017).

Neste estudo, foi observado um aumento significativo na atividade da SOD em pacientes com diagnóstico de CCR em comparação com o grupo controle, sugerindo que pode haver uma maior demanda antioxidante na presença do tumor. Uma possível interpretação para este resultado é uma maior atividade enzimática associada a um mecanismo de compensação à maior produção de EROs no ambiente tumoral. Em conformidade com os nossos achados, diversos estudos já descreveram uma maior atividade de SOD em pacientes com CCR quando comparados a indivíduos saudáveis. Os estudos obtidos por Gaya-Bover e colaboradores (2020) e por Kocot e colaboradores (2013) mostraram um aumento da atividade da SOD diretamente no microambiente tumoral, enquanto que os estudos

conduzidos pelos grupos de Malinowska (2015) e de Zińczuk (2019) mostraram uma maior atividade da SOD no sangue total, semelhantemente ao que foi encontrado pelo nosso grupo de pesquisa (SKRZYDLEWSKA, 2005; STRZELCZYK et al., 2012; KOCOT et al., 2013; MALINOWSKA et al., 2015; ZIŃCZUK et al., 2019; GAYA-BOVER et al., 2020).

Em contrapartida, há estudos mostrando uma diminuição na atividade da enzima SOD em pacientes com CCR (VAN DRIEL et al., 1997; GOPČEVIĆ et al., 2013). Contudo, sobre esse fato, a literatura aponta para uma variação na atividade e expressão da SOD de acordo com o estadiamento tumoral e isoforma avaliada. Skrzycki e colaboradores (2009) descreveram uma maior concentração de biomarcadores de estresse oxidativo e uma elevação da atividade da SOD1 nos estágios iniciais do desenvolvimento do CCR, cursando com discreta diminuição dessa atividade nos estágios mais avançados da neoplasia. Em relação à SOD2, o mesmo trabalho apresentou um comportamento ondulatório em sua atividade, com diminuição no primeiro e terceiro estágios, e aumento no segundo e quarto estágios, sugerindo uma adaptação do tumor aos níveis elevados de estresse oxidativo (SKRZYCKI et al., 2009).

Além disso, o grupo de pesquisa de Gaya-Bover (2020) mostrou uma elevação progressiva da expressão de SOD que coincidente com o avanço tumoral, apresentando maiores níveis de SOD em estágios mais avançados da doença. Nesse caso, os autores sugerem que esta poderia ser uma resposta ao aumento do estresse oxidativo decorrente de maior hipóxia tecidual nos estágios mais avançados da neoplasia, fato que poderia sugerir que os pacientes envolvidos no nosso estudo apresentam tumores em estágios avançados de desenvolvimento. Além disso, o mesmo estudo encontrou níveis elevados de SOD, CAT e glutathiona peroxidase (GPx) em tecidos não tumorais de pacientes com CCR nos estágios II e III em comparação com o tecido não tumoral de pacientes no estágio I, sugerindo, assim, uma adaptação ao estresse oxidativo não apenas no tecido tumoral como também nos tecidos vizinhos.

Importante de ser destacado, nesse ponto, é que a maior atividade da SOD pode estar associada também a mecanismos de resistência das células tumorais aos efeitos danosos das EROs. Os efeitos tóxicos do estresse oxidativo, observados no contexto do CCR, podem ser minimizados pelas células neoplásicas através da super ativação da SOD, uma vez que a MnSOD (Superóxido dismutase dependente de Manganês) também protege as células tumorais contra efeitos citotóxicos (KOCOT et al., 2013). É descrito na literatura, inclusive, um envolvimento do mRNA de MnSOD na invasão vascular em diversos tipos de câncer, inclusive no CCR (MIAR et al., 2015; LI et al., 2018). Nesse contexto, os pacientes do nosso

estudo podem estar desenvolvendo mecanismos alternativos para a maior sobrevivência e resistência das células tumorais àquele microambiente, especialmente pelo aumento da atividade da SOD.

Ademais, foi demonstrado que o tecido tumoral do cólon produz grandes quantidades de H_2O_2 - produto da atividade de SOD (ZIŃCZUK et al., 2019), o que pode colaborar para a progressão tumoral. Sua inibição tem sido inclusive estudada como potencial alvo terapêutico (AZZOLIN et al., 2016). Dessa forma, uma maior atividade de SOD no tecido tumoral pode indicar também um fator vantajoso para o desenvolvimento da neoplasia.

No que diz respeito à família enzimática glutaciona, ela está presente em praticamente todas as células, sobretudo em sua forma reduzida (GSH), atuando no metabolismo, transporte e proteção celulares (DIAZ-VIVANCOS et al., 2015). A glutaciona transferase (GST) atua com o objetivo de preservar a macromolécula de GSH após a exposição desta ao estresse oxidativo, tendo papel fundamental na manutenção da atividade antioxidante de glutaciona e consequente proteção do DNA contra agentes oxidantes (WU; DONG, 2012). Foi demonstrado que tecidos com baixo nível de GSH ou GSTs podem ter uma capacidade reduzida de desintoxicar agentes cancerígenos, podendo levar a um maior risco de câncer (CHATTERJEE; GRUPTA, 2018).

Associado a isso, mesmo que a ação da GST no processo carcinogênico não esteja completamente elucidada, ela tem sido apontada como potencial biomarcador tumoral (CHATTERJEE; GUPTA, 2018). Sabe-se que o aumento de EROs é capaz de induzir a atividade de GST *in vivo* em mamíferos, entretanto sua regulação é complexa e varia de acordo com idade, sexo e morbidades (DONG et al., 2018). Em nosso estudo, observamos um aumento significativo da atividade de GST em pacientes com CCR em comparação aos indivíduos saudáveis. Em concordância com nossos achados, estudos anteriores encontraram elevados níveis de GST no sangue de pacientes com CCR (SAYGILI et al., 2003; ŚCIBIOR et al., 2008) em resposta ao aumento na produção de EROs nessa condição patológica. Além disso, foi descrita uma maior expressão de GST em tecidos de adenocarcinoma do cólon, em comparação com a mucosa saudável (VLAYKOVA et al., 2012; BULUS et al., 2018).

Ademais, estudos têm revelado que diferentes polimorfismos dos genes de GST podem estar associados ao risco de carcinogênese, inclusive no que se refere ao CCR (KLUSEK; GŁUSZEK; KLUSEK, 2014). Bulus e colaboradores (2018) sugeriram que a GST, especialmente as isoformas GSTP1, GSTO1, GSTK1 e GSTT1 podem estar associadas à carcinogênese e ao crescimento tumoral no adenocarcinoma do cólon. Para mais, a isoforma

GSTP também está envolvida em várias funções celulares, especialmente na regulação da ação de diversas quinases e no processo pós-tradução de S-glutationilação de várias proteínas, fato importantíssimo de ser destacado, uma vez que vias anormais de sinalização de quinases e o padrão alterado de glutathionilação da proteína S são características de fenótipos malignos (CHATTERJEE; GUPTA, 2018). Por tudo isso, a atividade aumentada de GST, observada em nosso grupo de pacientes com CCR, também pode estar relacionada a alterações de vias de sinalização celulares que desempenham papel importante no favorecimento do desenvolvimento tumoral.

Nesse ponto, vale salientar que o envolvimento de isoformas de GST no desenvolvimento tumoral também pode estar associado a mecanismos de resistência das células neoplásicas aos quimioterápicos. A literatura tem mostrado que essa resistência pode estar associada a isoformas citoplasmáticas de GST, especialmente os subtipos α , π e μ . Estas parecem agir em sinergismo com proteínas bem descritas nos mecanismos de resistência a quimioterápicos, como a proteína de resistência a múltiplas drogas (MRP) e a glicoproteína-P (Pgp) (HAYES; PULFORD, 1995). Além disso, estudos demonstram alta expressão de GST π em várias linhagens de células tumorais, incluindo cânceres do trato gastrointestinal (DOĞRU-ABBASOĞLU et al., 2002; ŚCIBIOR et al., 2008; DONG et al., 2018). Tomando todas essas evidências em conjunto, podemos sugerir um prognóstico desfavorável para os pacientes incluídos neste estudo.

Sobre a MPO, ela pode ser usada como marcador de inflamação na mucosa colorretal, sendo também um importante alvo terapêutico no tratamento de condições inflamatórias que levam ao desenvolvimento do CCR (VEEN; WINTHER; HEERINGA, 2009). Em nosso estudo verificamos uma menor atividade dessa enzima no grupo de pacientes com diagnóstico de CCR e, alinhado a esse resultado, a literatura tem demonstrado que a atividade basal da MPO está envolvida na defesa da mucosa contra tumores (REVAZ; NARDELLI-HAEFLIGER, 2005) e, em modelos animais, a deficiência de MPO resulta no exagero da resposta inflamatória e afeta as funções dos neutrófilos, especialmente no que tange à produção de citocinas (ARATANI, 2018; MARIANI; RONCUCCI, 2017). Sendo assim, podemos sugerir que o controle dos processos inflamatórios da mucosa intestinal dos pacientes que têm baixa atividade da MPO está prejudicado, tornando esses pacientes mais suscetíveis e vulneráveis à progressão do CCR.

A relação entre o desenvolvimento de tumores do cólon e a atividade da MPO abaixo da basal pode estar associada à presença, em demasia, do seu substrato H₂O₂. Uma vez que

uma menor atividade dessa enzima pode levar a uma deficiência da metabolização de H_2O_2 , permitindo o acúmulo desse substrato e facilitando a progressão do CCR (AL-SALIHI; REICHERT; FITZPATRICK, 2015). Tal afirmação é corroborada pelo fato de que o tecido tumoral do cólon produz grandes quantidades de H_2O_2 (ZIŃCZUK et al., 2019) e, nesse contexto, é importante ressaltar que o H_2O_2 é mais prejudicial das EROs devido a sua capacidade de se mover facilmente através dos compartimentos celulares (GAYA-BOVER et al., 2020).

Não bastasse, estudos, em camundongos, com inibição da atividade ou ausência do gene para expressão de MPO, mostraram um aumento pequeno, mas significativo, na incidência de tumores do cólon (AL-SALIHI; REICHERT; FITZPATRICK, 2015). Ainda, se considerarmos o microambiente tumoral, foi demonstrado, no estudo realizado por Däster e colaboradores (2015), que a baixa expressão de MPO e de células T $CD8^+$ é indicativa de um prognóstico mais severo de CCR. De forma análoga, em outra pesquisa os autores mostraram que uma maior densidade de neutrófilos e outras células que apresentem atividade da MPO, quando associados ao tumor estão relacionadas a um melhor prognóstico e maior sobrevida para a doença (GALDIERO et al., 2016; HIRT et al., 2013).

5 CONCLUSÃO

Pela primeira vez foram avaliadas as atividades da SOD, GST e MPO no sangue de pacientes com CCR, atendidos num hospital de referência do oeste catarinense. Parece haver uma estreita relação entre as atividades dessas enzimas e o processo de desenvolvimento do CCR, uma vez que elas desempenham papéis fundamentais na resposta do organismo ao estresse oxidativo, inclusive demonstrando potencial para serem utilizadas como marcadores biológicos da progressão desta doença. Faz-se necessário dar seguimento aos estudos nessa área para que seja possível contemplar um maior número amostral, assim como realizar a avaliação das atividades enzimáticas em outros espécimes biológicos, inclusive no microambiente tumoral, tendo em vista a relevância do tema no contexto de saúde pública.

REFERÊNCIAS

- AL-SALIHI, M.; REICHERT, E.; FITZPATRICK, F. A. Influence of myeloperoxidase on colon tumor occurrence in inflamed versus non-inflamed colons of ApcMin/+ mice. **Redox Biology**, [s.l.], v. 6, p. 218-225, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2015.07.013>.
- ARATANI, Y. Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function. *Archives Of Biochemistry And Biophysics*, [s.l.], v. 640, p.47-52, fev. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2018.01.004>.
- AZZOLIN, V. F. et al. Superoxide-hydrogen peroxide imbalance interferes with colorectal cancer cells viability, proliferation and oxaliplatin response. **Toxicology in Vitro**, [s.l.], v. 32, p. 8-15, abr. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tiv.2015.12.001>.
- BOSMAN, F. T. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer: Classification of tumours of the digestive system. 4. ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2010.
- BULUS, H. et al. Expression of CYP and GST in human normal and colon tumor tissues. **Biotechnic & Histochemistry**, [s.l.], v. 94, n. 1, p. 1-9, 9 ago. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10520295.2018.1493220>.
- CARINI, F. et al. Colorectal Carcinogenesis: Role of Oxidative Stress and Antioxidants. **Anticancer research**, v. 37, n. 9, p. 4759-4766, 2017. <http://dx.doi.org/10.21873/anticancer.11882>.
- CHATTERJEE, A.; GUPTA, S. The multifaceted role of glutathione S-transferases in cancer. **Cancer Letters**, [s.l.], v. 433, p. 33-42, out. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2018.06.028>.
- DÄSTER, S. et al. Absence of myeloperoxidase and CD8 positive cells in colorectal cancer infiltrates identifies patients with severe prognosis. **Oncoimmunology**, [s.l.], v. 4, n. 12, p. 1-8, 29 maio 2015. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/2162402x.2015.1050574>.
- DIAZ-VIVANCOS, P. et al. Glutathione – linking cell proliferation to oxidative stress. **Free Radical Biology and Medicine**, [s.l.], v. 89, p. 1154-1164, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.09.023>.
- DOĞRU-ABBASOĞLU, S. et al. Glutathione S-transferase-pi in malignant tissues and plasma of human colorectal and gastric cancers. **Journal of Cancer Research and Clinical**

Oncology, [s.l.], v. 128, n. 2, p. 91-95, 1 fev. 2002. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00432-001-0300-7>.

DONG, S. et al. Glutathione S-transferase π : a potential role in antitumor therapy. **Drug Design, Development and Therapy**, [s.l.], v. 12, p.3535-3547, out. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/dddt.s169833>.

FARIAS, I. L. et al. Correlation between TBARS levels and glycolytic enzymes: The importance to the initial evaluation of clinical outcome of colorectal cancer patients. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 65, n. 6, p. 395-400, 2011.

GALDIERO, M. R. et al. Occurrence and significance of tumor-associated neutrophils in patients with colorectal cancer. **International Journal of Cancer**, [s.l.], v. 139, n. 2, p. 446-456, 24 mar. 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.30076>.

GAYA-BOVER, A. et al. Antioxidant enzymes change in different non-metastatic stages in tumoral and peritumoral tissues of colorectal cancer. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, [s.l.], v. 120, p. 105698, mar. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2020.105698>.

GILL, J. G.; PISKOUNOVA, E.; MORRISON, S. J. 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>.

GOPČEVIĆ, Kristina R. *et al.* Activity of Superoxide Dismutase, Catalase, Glutathione Peroxidase, and Glutathione Reductase in Different Stages of Colorectal Carcinoma. **Digestive Diseases And Sciences**, [s.l.], v. 58, n. 9, p. 2646-2652, 27 abr. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10620-013-2681-2>.

HADJIPETROU, A. et al. Colorectal cancer, screening and primary care: A mini literature review. **World Journal of Gastroenterology**, v. 23, n. 33, p. 6049-6058, 2017.

HAO, M.; LIU, R. Molecular mechanism of CAT and SOD activity change under MPA-CdTe quantum dots induced oxidative stress in the mouse primary hepatocytes. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s.l.], v. 220, p. 117104, set. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2019.05.009>.

HAYES, J. D.; Pulford, D. J. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, [s.l.], v. 30, n. 6, p. 445-520, jan. 1995. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/10409239509083491>.

HIRT, C. et al. Colorectal carcinoma infiltration by myeloperoxidase-expressing neutrophil granulocytes is associated with favorable prognosis. **Oncoimmunology**, [s.l.], v. 2, n. 10, p. 25990, out. 2013. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.4161/onci.25990>.

HUGEN, N. et al. Colorectal signet-ring cell carcinoma: benefit from adjuvant chemotherapy

but a poor prognostic factor. **International Journal of Cancer**, v. 136, n. 2, p. 333-339, 2015.

International Agency for Research on Cancer. World Health Organization [Internet]. GLOBOCAN 2018: estimated cancer incidence, and mortality and prevalence worldwide in 2018: cancer fact sheets. **Lyon: IARC**; 2019. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/39-All-cancers-fact-sheet.pdf>

KERR, J.; ANDERSON, C.; LIPPMAN, S. M. Physical activity, sedentary behaviour, diet, and cancer: an update and emerging new evidence. **The Lancet Oncology**, [s.l.], v. 18, n. 8, p. 457-471, ago. 2017. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1470-2045\(17\)30411-4](http://dx.doi.org/10.1016/s1470-2045(17)30411-4).

KLAUNIG, J. E. Oxidative Stress and Cancer. **Current Pharmaceutical Design**, [s.l.], v. 24, n. 40, p. 4771-4778, 15 mar. 2019. Bentham Science Publishers Ltd. <http://dx.doi.org/10.2174/1381612825666190215121712>.

KLAUNIG, J. E.; KAMENDULIS, L. M. The role of oxidative stress in carcinogenesis, **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 44, p. 239-267, 2004.

KLUSEK, J.; GŁUSZEK, S.; KLUSEK, J. GST gene polymorphisms and the risk of colorectal cancer development. **Współczesna Onkologia**, [s.l.], v. 4, p. 219-221, 2014. Termedia Sp. z.o.o. <http://dx.doi.org/10.5114/wo.2014.41388>.

KOCOT, J. et al. Total antioxidant status value and superoxide dismutase activity in human colorectal cancer tissue depending on the stage of the disease: a pilot study. **Advances in Clinical and Experimental Medicine**, v. 22, n. 3, p. 431-437, 2013.

LI, S. et al. The novel truncated isoform of human manganese superoxide dismutase has a differential role in promoting metastasis of lung cancer cells. **Cell Biology International**, [s.l.], v. 42, n. 8, p. 1030-1040, 8 maio 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cbin.10972>.

MALDONADO, P. A. et al. Oxidative status in patients submitted to conization and radiation treatments for uterine cervix neoplasia. **Clinica Chimica Acta**, v. 366, p. 174-178, 2006.

MALINOWSKA, K. et al. Evaluation Of Antioxidant Defense In Patients With Colorectal Carcinoma. **Polish Journal of Surgery**, [s.l.], v. 87, n. 7, p. 357-361, 1 jan. 2015. Index Copernicus. <http://dx.doi.org/10.1515/pjs-2015-0069>.

MARIANI, F.; RONCUCCI, L. Role of the Vanins–Myeloperoxidase Axis in Colorectal Carcinogenesis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 5, p. 918, 2017.

MIAO, L.; ST CLAIR, D. K. Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease. **Free Radical Biology and Medicine**, [s.l.], v. 47, n. 4, p. 344-356, ago. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.018>.

MIAR, A. et al. Manganese superoxide dismutase (SOD2/MnSOD)/catalase and SOD2/GPx1 ratios as biomarkers for tumor progression and metastasis in prostate, colon, and lung cancer.

Free Radical Biology and Medicine, [s.l.], v. 85, p. 45-55, ago. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.04.001>.

MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The Role of Superoxide Anion in the Autoxidation of Epinephrine and a Simple Assay for Superoxide Dismutase. **Journal of Biological Chemistry**, p. 3170-3175, 1972.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Sistema de Informação sobre Mortalidade, 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Incidência de câncer no Brasil. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Rio de Janeiro, 2020.

MURPHY, N. et al. Lifestyle and dietary environmental factors in colorectal cancer susceptibility. **Molecular Aspects of Medicine**, [s.l.], v. 69, p. 2-9, out. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mam.2019.06.005>.

OESTREICHER, J.; MORGAN, B. Glutathione: subcellular distribution and membrane transport. **Biochemistry and Cell Biology**, [s.l.], v. 97, n. 3, p. 270-289, jun. 2019. Canadian Science Publishing. <http://dx.doi.org/10.1139/bcb-2018-0189>.

OINES, M. et al. Epidemiology and risk factors of colorectal polyps. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, [s.l.], v. 31, n. 4, p. 419-424, ago. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpg.2017.06.004>.

OLIVEIRA, R.B.; ALVES, R.J. Agentes antineoplásicos biorredutíveis: uma nova alternativa para o tratamento de tumores sólidos. **Química Nova**, v. 25, p. 976-984, 2002.

REVAZ, V.; NARDELLI-HAEFLIGER, D. The importance of mucosal immunity in defense against epithelial cancers. **Current Opinion in Immunology**, [s.l.], v. 17, n. 2, p. 175-179, abr. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coi.2005.01.001>.

SAJADIMAJD, S.; KHAZAEI, M. Oxidative Stress and Cancer: the role of nrf2. **Current Cancer Drug Targets**, [s.l.], v. 18, n. 6, p. 538-557, 11 jun. 2018. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/1568009617666171002144228>.

SASSO, A.; LATELLA, G. Role of Heme Iron in the Association Between Red Meat Consumption and Colorectal Cancer. **Nutrition and Cancer**, [s.l.], v. 70, n. 8, p. 1173-1183, 17 nov. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/01635581.2018.1521441>

SAYGILI, E. I. et al. Glutathione and Glutathione-Related Enzymes in Colorectal Cancer Patients. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, [s.l.], v. 66, n. 5, p. 411-415, jan. 2003. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/15287390306448>.

SCHMATZ, R. **Efeitos do resveratrol, do suco de uva e do vinho tinto nos biomarcadores de estresse oxidativo e na atividade de ectoenzimas em ratos diabéticos**. 2011. 144f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

- ŚCIBIOR, D. et al. Glutathione level and glutathione-dependent enzyme activities in blood serum of patients with gastrointestinal tract tumors. **Clinical Biochemistry**, [s.l.], v. 41, n. 10-11, p. 852-858, jul. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2008.03.005>.
- SKRZYCKI, M. et al. Expression and activity of superoxide dismutase isoenzymes in colorectal cancer. **Acta Biochimica Polonica**, [s.l.], v. 56, n. 4, p. 663-670, 2009.
- STONE, W. L. et al. The role of antioxidants and pro-oxidants in colon cancer. **World J Gastrointest Oncol** 6: 55-66, 2014.
- STRZELCZYK, J. K. et al. The activity of antioxidant enzymes in colorectal adenocarcinoma and corresponding normal mucosa. **Acta Biochimica Polonica**, [s.l.], v. 59, n. 4, p. 549-556, 2012.
- TOYOKUNI, S. et al. Persistent oxidative stress in cancer. **FEBS Letters**, v. 358, p. 1-3, 1995.
- VAN DRIEL, B. E. M. et al. Expression of CuZn- and Mn-Superoxide Dismutase in Human Colorectal Neoplasms. **Free Radical Biology and Medicine**, [s.l.], v. 23, n. 3, p. 435-444, 1997. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0891-5849\(97\)00102-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0891-5849(97)00102-0).
- VANHAMME, L. et al. The other myeloperoxidase: Emerging functions, **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [s.l.], v. 649, p. 1-14, 2018. doi: 10.1016/j.abb.2018.03.037.
- VEEN, B. S. D.; WINTHER, M. P. J.; HEERINGA, P. Myeloperoxidase: molecular mechanisms of action and their relevance to human health and disease. **Antioxidants & Redox Signaling**, [s.l.], v. 11, n. 11, p. 2899-2937, nov. 2009. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/ars.2009.2538>.
- VLAYKOVA, T. et al. Glutathione-S transferases in development, progression and therapy of colorectal cancer. In: **Ettarh DR, Ed. Colorectal Cancer Biology—from Genes to Tumor**. 2012. Rijeka (Croatia): InTech; p. 81–106.
- WU, B.; DONG, D. Human cytosolic glutathione transferases: structure, function, and drug discovery. **Trends in Pharmacological Sciences**, [s.l.], v. 33, n.12, p. 656-668, 2012.
- ZANINI, D. et al. Ectoenzymes and cholinesterase activity and biomarkers of oxidative stress in patients with lung cancer. **Molecular and Cellular Biochemistry**, [s.l.], v. 374, n. 1-2, p. 137-148, 18 nov. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11010-012-1513-6>.
- ZIŃCZUK et al. Antioxidant Barrier, Redox Status, and Oxidative Damage to Biomolecules in Patients with Colorectal Cancer. Can Malondialdehyde and Catalase Be Markers of Colorectal Cancer Advancement? **Biomolecules**, [s.l.], v. 9, n. 10, p. 637, 22 out. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/biom9100637>.