

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

**ANNE LISS WEILER
DACIELE PAOLA PRECI**

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES
COM LESÃO INTRAEPITELIAL ESCAMOSA DE ALTO GRAU**

CHAPECÓ

2021

ANNE LISS WEILER
DACIELE PAOLA PRECI

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES
COM LESÃO INTRAEPITELIAL ESCAMOSA DE ALTO GRAU**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Medicina da Universidade Federal da
Fronteira Sul (UFFS), como parte dos requisitos
para obtenção do grau de médico(a).

Orientadora: Profa. Dra. Andréia Machado Cardoso

Coorientadora: Profa. Dra. Adriana Wagner

CHAPECÓ

2021

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Weiler, Anne Liss

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM
PACIENTES COM LESÃO INTRAEPITELIAL ESCAMOSA DE ALTO GRAU
/ Anne Liss Weiler, Daciele Paola Preci. -- 2021.
25 f.:il.

Orientadora: Dra. Andréia Machado Cardoso

Co-orientadora: Dra. Adriana Wagner

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Medicina, Chapecó, SC, 2021.

I. Preci, Daciele Paola II. Cardoso, Andréia
Machado, orient. III. Wagner, Adriana, co-orient. IV.
Universidade Federal da Fronteira Sul. V. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

ANNE LISS WEILER
DACIELE PAOLA PRECI

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES COM LESÃO
INTRAEPITELIAL ESCAMOSA DE ALTO GRAU**

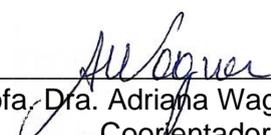
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Medicina da Universidade Federal da
Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do
título de bacharel em medicina.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 19/10/2021.

BANCA EXAMINADORA



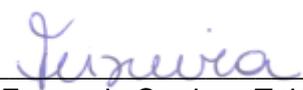
Profa. Dra. Andréia Machado Cardoso – UFFS
Orientadora



Profa. Dra. Adriana Wagner – UFFS
Coorientadora



Prof. Me. Werner André Weissheimer – UFFS
Avaliador



Profa. Dra. Fernanda Cardoso Teixeira - UFCSPA
Avaliadora

Avaliação de parâmetros de estresse oxidativo em pacientes com Lesão Intraepitelial Escamosa de Alto Grau

Autor correspondente:

Andréia Machado Cardoso, Ph.D.

Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas, *Campus* Chapecó, Chapecó, Santa Catarina, CEP: 89802-112, Brasil.

Número de telefone: +55 49 999611000;

Endereço de e-mail: andreia.cardoso@uffs.edu.br or deiaa.mc@gmail.com.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4243-8855>.

Coautores:

Anne Liss Weiler¹.

Endereço de e-mail: anne.weiler@estudante.uffs.edu.br.

Daciele Paola Preci¹.

Endereço de e-mail: daciele.preci@estudante.uffs.edu.br.

Adriana Wagner¹

Endereço de e-mail:

¹Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Medicina, *Campus* Chapecó, Chapecó, Santa Catarina, Brasil.

Palavras-chave: HPV, câncer cervical, dano oxidativo, antioxidantes enzimáticos, antioxidantes não-enzimáticos, espécies reativas de oxigênio.

Periódico ao qual o manuscrito será submetido: International Journal of Gynecological Cancer.

RESUMO

As lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (HSIL) são proliferações celulares com maturação anormais e atípicas que tornam parte ou toda a espessura do epitélio escamoso cervical substituído e que possuem alta taxa de progressão para câncer de colo uterino. É conhecido o envolvimento entre o estresse oxidativo e antioxidantes em alguns tipos de câncer, porém, poucos trabalhos realizam essa correlação com lesões precursoras, como HSIL, ou ainda, as fazem com quantidade limitada de parâmetros oxidativos. Dessa forma, esse trabalho busca avaliar o envolvimento do estresse oxidativo na patogênese e prognóstico das HSIL através da avaliação de parâmetros oxidativos e antioxidantes em pacientes com HSIL. Um grupo de pacientes com essa patologia (n=17) e um grupo controle (n=17) foi selecionado para coleta única de amostra de sangue periférico. Incluíram-se pacientes com diagnóstico de HSIL não submetidas previamente a qualquer tratamento para essas lesões; e em mulheres saudáveis e sem qualquer lesão cervical, na mesma faixa etária. O estresse oxidativo foi avaliado pela quantificação sérica de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), um marcador de dano lipídico, assim como a mieloperoxidase (MPO), mediadora de resposta inflamatória. O perfil antioxidante foi estimado através da mensuração de antioxidantes enzimáticos, como glutathione-S-transferase (GST) e catalase (CAT), enquanto que os não enzimáticos, pela dosagem de tióis protéicos (PSH), tióis não protéicos (NPSH) e vitamina C. Os dados foram analisados pelos testes de *Shapiro-Wilk* e *U de Mann-Whitney* para comparação entre as médias. Observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre pacientes com HSIL e paciente grupo controle na avaliação de TBARS em amostras de soro, atividade da enzima GST, na quantificação de vitamina C, MPO e nos resultados para NPSH. No entanto, encontrou-se uma redução significativa para CAT e PSH ($p < 0,05$). A diminuição de CAT pode estar relacionada à exaustão da sua atividade na eliminação de radicais livres ou captura desta enzima pelas células pré-neoplásicas, enquanto que o déficit de PSH deve-se ao seu consumo diante da oxidação de proteínas perante o estresse oxidativo, o que favorece a progressão tumoral. Acredita-se que a falta de correlação significativa para os demais parâmetros analisados pode ser consequência da limitação do estudo em pacientes com HSIL excluindo outras fases tumorais, uma vez que esses valores podem se apresentar alterados em outros estágios de desenvolvimento do tumor cervical, ou então estar relacionado à quantidade amostral insuficiente para uma análise mais expressiva. Sugere-se, assim, a ampliação da população estudada para melhor elucidação do perfil oxidativo em pacientes com lesão cervical pré-tumoral. Contudo, os resultados desse estudo, reforçam a hipótese do envolvimento do estresse oxidativo e estado antioxidante prejudicado na patogênese das lesões cervicais, os quais indicam um pior prognóstico na progressão ao câncer de colo uterino.

Palavras-chave: HPV, câncer cervical, dano oxidativo, antioxidantes enzimáticos, antioxidantes não enzimáticos, espécies reativas de oxigênio.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| INTRODUÇÃO | 6 |
| MATERIAIS E MÉTODOS | 8 |
| Grupo experimental | 8 |
| Parâmetros antropométricos | 9 |
| Coleta e preparo das amostras | 9 |
| Quantificação de proteínas | 10 |
| Quantificação de marcador de dano oxidativo | 10 |
| Quantificação de mediador de resposta inflamatória | 10 |
| Quantificação de antioxidantes | 11 |
| Catalase | 11 |
| Glutathiona-S-transferase | 11 |
| Vitamina C | 11 |
| Determinação de grupamentos –SH proteicos e não proteicos | 12 |
| Análise estatística | 12 |
| RESULTADOS | 12 |
| Dados antropométricos | 12 |
| Parâmetro de dano oxidativo | 13 |
| Mediador de resposta inflamatória | 13 |
| Antioxidantes enzimáticos | 13 |
| Antioxidantes não enzimáticos | 13 |
| DISCUSSÃO | 14 |
| CONCLUSÃO | 18 |
| REFERÊNCIAS | 20 |
| TABELA | 23 |
| FIGURAS | 24 |
| TÍTULOS E LEGENDAS DAS FIGURAS | 25 |

INTRODUÇÃO

As lesões intraepiteliais escamosas são caracterizadas como lesões proliferativas com maturação anormal e atipias de diversos graus, as quais tornam parte ou toda a espessura do epitélio escamoso cervical substituído. O Sistema Bethesda introduziu a nomenclatura dessas lesões separando-as em lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL - *Low Squamous Intraepithelial Lesion*) e lesão intraepitelial escamosa 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 (NIC I) são classificadas como LSIL.^{1 2}

O rastreio das lesões precursoras do colo uterino dá-se por meio da realização da colpocitologia oncótica. No entanto, o exame padrão-ouro para o diagnóstico é a histologia.³ A maior parte dos resultados de exame com HSIL não são confirmados no próximo exame, regredindo espontaneamente, enquanto que HSIL tem maior taxa de progressão para câncer de colo uterino.^{4 5} Sendo assim, o estudo de HSIL se torna importante, uma vez que o excetuando-se o câncer de pele não melanoma, o câncer cervical é o terceiro tumor maligno mais incidente na população feminina e a quarta causa de morte de mulheres por câncer no Brasil, cuja prevalência no país é de 46.858 mulheres acometidas.^{6 7}

A patogênese do câncer cervical e do desenvolvimento dessas lesões precursoras está envolvida à infecção persistente pelos grupos carcinogênicos do Papilomavírus Humano (HPV), principalmente os tipos 16 e 18, cuja propagação acontece por meio do contato físico e sexual ao infectar o epitélio mucoso da cérvix.⁸ Na medida em que a infecção viral se torna crônica, a inflamação engendrada pode ser amplificada a ponto de provocar alteração na fisiologia de crescimento, multiplicação e apoptose celular, o que favorece o estabelecimento de lesões pré-cancerosas, e a progressão e invasibilidade tumoral.⁹⁻¹¹

Lee et al. (2005) sugerem que possa haver uma correlação entre os processos de HSIL e as mudanças no sistema antioxidante no plasma.¹² No entanto, sabe-se que a carcinogênese envolve uma alteração no *status* redox, desbalanço entre oxidação e redução, capaz de afetar diferentes processos metabólicos envolvidos na progressão do câncer.¹³⁻¹⁶ A oxidação produz radicais livres de forma

natural ou quando ocorre uma disfunção biológica, e está presente naturalmente na vida aeróbica e no metabolismo celular.¹⁷ O incremento da oxidação leva ao estresse oxidativo, aumento na produção moléculas que possuem radicais livres, isto é, átomos com um elétron desemparelhado centrado, denominados espécies reativas de oxigênio (EROs) e nitrogênio (ERNs).¹⁸ Essa desregulação redox cria um ciclo vicioso no microambiente tumoral, propiciando a infecção pelo HPV e aumentando a produção de EROs, ao mesmo tempo que reduz a ação de antioxidantes gerando assim, dano oxidativo e carcinogênese, principalmente, na etapa inicial da carcinogênese, com a promoção de dano oxidativos.^{15 16}

Esta capacidade do HPV é possível devido às oncoproteínas virais - E1, E2, E5, E6 e E7 - que apresentam diferentes níveis de expressão ao longo dos estágios do desenvolvimento do câncer e possuem ação reguladora de antioxidantes na instauração do estresse oxidativo. De forma geral, as oncoproteínas provocam a redução dos níveis de antioxidantes circulantes, o que aumenta a capacidade oxidativa e compromete o sistema de reparo do DNA, facilitando a incorporação do material genético viral ao do hospedeiro.^{19 17} Em contrapartida, o *status* oxidativo provocado por esse processo pode afetar até mesmo o desenvolvimento das células infectadas. Por esse motivo, no intuito de se proteger, o HPV possui ainda oncoproteínas virais capazes de regular de forma positiva o *status* antioxidante a nível celular.^{19 20}

Os antioxidantes, presentes no plasma, eritrócitos e tecidos, são classificados conforme sua natureza enzimática e não enzimática. Os antioxidantes enzimáticos podem ser considerados uma linha de defesa inicial, sendo representados, principalmente, pelas enzimas primárias superóxido dismutase (SOD) - especialmente SOD2 - catalase (CAT) e glutaciona peroxidase (GPx), que estão envolvidas diretamente na eliminação de EROs, além de glutaciona-S-transferase (GST), enzima secundária que age de forma detoxificante na redução de peróxidos; e glutaciona redutase, envolvida de forma indireta na manutenção do equilíbrio redox por impedir a paralisação do ciclo metabólico da GSH.^{21 14 22} A segunda linha de defesa seria constituída por substâncias menores de fonte endógena, como moléculas que possuem tióis reduzidos, como a glutaciona reduzida (GSH) - um importante tiol conjugado à GPx e à GST -, e antioxidantes de baixo peso molecular, provenientes do meio exógeno, a exemplo de tocoferóis (vitamina E), ascorbato (vitamina C) e retinóis (vitamina A).^{23 14}

Este estudo avalia o perfil do estresse oxidativo em pacientes diagnosticadas com lesões de alto grau e grupo controle. Foram quantificados os marcadores de dano oxidativo refletidos pelos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), envolvido em reações de peroxidação lipídica assim como a mieloperoxidase, um marcador de resposta inflamatória. Consoante isso, estimou-se também o perfil antioxidante de ambos os grupos, responsável pela capacidade de eliminação de EROs e manutenção do equilíbrio redox. Para tanto, avaliou-se os índices de antioxidantes enzimáticos, como a atividade de GST e CAT, além dos níveis de antioxidantes não enzimáticos, como tióis protéicos (PSH) e não protéicos (NPSH) e vitamina C.

Entende-se assim que este estudo se torna importante uma vez que grande parte dos trabalhos publicados é limitada à mensuração de antioxidantes por grupo amostral, carecendo de mais parâmetros correlativos que reflitam melhor o papel prognóstico desses elementos nas pacientes com HSIL. Além disso, sabendo que os EROs possuem papel fundamental na carcinogênese, não há um consenso da literatura sobre os reais parâmetros oxidativos e antioxidantes alterados nas pacientes com lesão precursora do câncer de colo uterino.

MATERIAIS E MÉTODOS

Grupo experimental

Foram selecionadas dezessete (17) pacientes com HSIL recém-diagnosticadas 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. Também foram selecionadas dezessete (17) pacientes com resultado do exame de papanicolau negativo para HSIL ou LSIL, da mesma faixa etária das mulheres do grupo anterior, as quais também não tinham histórico de doença prévia, não haviam sido em nenhum momento tratadas para HSIL ou LSIL e sem histórico de câncer. As informações de subtipo histológico da doença, doenças inflamatórias ginecológicas e doenças crônicas foram obtidas através de prontuário médico e entrevista com as pacientes. As pacientes com HSIL foram convidadas a participarem da pesquisa na consulta com ginecologista, aceitando participar de forma voluntária. A seleção das mulheres

participantes ocorreu entre os anos de 2019 a 2021, conforme o número de casos notificados no município de Chapecó no período. Ressalta-se que o número amostral da presente pesquisa foi significativamente afetado pela pandemia da COVID-19, visto que, durante a fase de coleta do grupo experimental, muitos exames de triagem e consultas eletivas no serviço de ginecologia do município não estavam sendo realizadas, apresentando, portanto, um subdiagnóstico para o período. A faixa etária das pacientes com HSIL e grupo controle foi de 22 a 45 anos. Foram excluídas do estudo pacientes que já tenham realizado a remoção cirúrgica das lesões neoplásicas ou iniciado o tratamento farmacológico. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), de acordo com as normas da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde sobre Pesquisa envolvendo seres humanos. O consentimento de participação foi obtido através da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Parâmetros antropométricos

Os parâmetros antropométricos foram obtidos através de informações concedidas pelos próprios sujeitos no momento da coleta ou determinados da seguinte forma:

- Estatura: a estatura total dos sujeitos foi obtida em posição ortostática por meio da distância entre a planta dos pés e o vértex da cabeça utilizando-se um estadiômetro vertical;
- Peso corporal: o peso corporal foi determinado pela massa corporal total do indivíduo utilizando uma balança digital;
- Índice de massa corporal: o índice de massa corporal (IMC) foi calculado pela divisão da massa corporal de cada participante pelo quadrado da sua estatura expressa em metros, de acordo com recomendações da ABESO (2016).²⁴

Coleta e preparo das amostras

As pacientes foram submetidas a uma punção periférica única de 20 ml de sangue total em tubos de sistema a vácuo contendo EDTA e tubos sem anticoagulantes. Após a coleta, os materiais foram encaminhados ao laboratório e

processados para separação em sangue total e plasma (a partir dos tubos contendo EDTA), e soro (a partir dos tubos sem anticoagulantes). Seguindo-se o processamento, as amostras foram congeladas em freezer a -80°C para futuras análises.

Quantificação de proteínas

A determinação de proteínas totais foi realizada de acordo com o método de Bradford (1976) com o uso do corante de *Coomassie brilliant blue* BG-250 e albumina bovina de soro bovino como padrão.²⁵ Esse método foi necessário para determinar a atividade de CAT e GST por mg de proteína.

Quantificação de marcador de dano oxidativo

A peroxidação lipídica foi estimada medindo-se TBARS em amostras de soro de acordo com um método modificado de Jentsch et al. (1996).²⁶ Para isso, foram adicionados 0,2 ml de soro à mistura de reação contendo 1 ml de ácido ortofosfórico a 1% e solução alcalina de 0,25 ml de TBARS (volume final 2 ml), seguido de 45 minutos de aquecimento a 95°C . Após o resfriamento, as amostras e os padrões de malondialdeído (MDA) foram lidos a 532 nm, contra o branco da curva padrão. Os resultados foram expressos em nanomoles de MDA por mililitro de soro.

Quantificação de mediador de resposta inflamatória

A atividade de MPO foi medida em plasma com EDTA e analisada espectrofotometricamente por um sistema de ensaio acoplado à peroxidase modificado envolvendo fenol, 4-aminoantipirina (AAP) e H_2O_2 . Na presença de H_2O_2 como agente oxidante, a MPO catalisa o acoplamento oxidativo de fenol e AAP, produzindo um produto colorido, quinoneimina, com absorvância máxima de 500 nm. O coeficiente de absorvância milimolar para a quinoneimina foi determinado como sendo $\Sigma = 14 \pm 0,1/\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$, semelhante aos valores descritos por Kayyali et al., (1991).²⁷ Os resultados foram expressos em micromolar de quinoneimina produzido em 30 min.

Quantificação de antioxidantes

Catalase

A determinação da CAT foi realizada em sangue total citratado de acordo com um método modificado de Nelson e Kiesow (1972).²⁸ Este ensaio envolve a alteração da absorvância a 240 nm devido à decomposição de hidrogênio dependente de CAT peróxido. Uma alíquota (0,02 ml) de sangue foi homogeneizada em tampão fosfato de potássio, pH 7.0. A determinação espectrofotométrica foi iniciada pela adição de 0,07 ml em uma solução aquosa de 0,3 mol/l de peróxido de hidrogênio. A mudança na absorvância a 240 nm será medida por 2 min. A atividade da CAT foi calculada usando o coeficiente de extinção molar (0,0436 cm² μmol) e os resultados expressos em picomoles por miligrama de proteína.

Glutathione-S-transferase

A atividade da GST foi medida no soro, como descrito por Warholm et al. (1985).²⁹ A técnica tem como princípio o uso de 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) como substrato, necessário para a enzima presente na amostra conjugar a GSH ao CDNB e assim formar um cromóforo detectável em 340 nm. A atividade foi monitorada durante 30 minutos com intervalos de 30 segundos, sendo obtida por meio do delta da absorvância e os valores expressos em mmol min⁻¹ ml⁻¹. A mistura do ensaio continha uma quantidade adequada de solução de amostra (em torno de 2,3 mg/ml de proteína) e o método de Bradford (1976) foi utilizado para a determinação do teor proteico.²⁵

Vitamina C

A vitamina C foi avaliada no soro de acordo com o método de Roe e Kuether (1943).³⁰ As proteínas foram precipitadas com ácido ticloroacético, por agitação em vórtex e centrifugação. O sobrenadante livre de proteína foi misturado com dinitrofenilhidrazina em ácido sulfúrico contendo tiourea e sulfato de cobre e incubado à 37°C por 2 h. O conteúdo de ácido ascórbico foi determinado a 520 nm e expresso como mg de ácido ascórbico/ml de soro.

Determinação de grupamentos –SH proteicos e não proteicos

Os PSH e NPSH foram mensurados espectrofotometricamente com o reagente de Ellman (1959).³¹ Alíquotas de soro foram adicionadas a uma solução tampão fosfato 1 mM, pH 7,4, e ácido 2-nitrobenzóico 10 mM. A reação foi lida a 412 nm. Para a dosagem de NPSH, as amostras de soro foram previamente desproteinizadas com adição de solução de ácido tricloroacético 10%, agitação em vórtex e centrifugação. Os dados foram descritos em $\mu\text{mol/ml}$ de soro.

Análise estatística

Os dados foram submetidos ao teste de *Shapiro-Wilk* para avaliar a distribuição de normalidade. Como os dados não seguem distribuição normal foi aplicado o teste não paramétrico Teste *U de Mann-Whitney* para a comparação entre as médias dos grupos e interpretação dos resultados. O nível de significância a ser utilizado é de $p < 0,05$ em todas as análises. O programa estatístico utilizado foi o *Graphpad® Prism* versão 8.0.

RESULTADOS

Dados antropométricos

No estudo foram analisados os dados provenientes de 17 mulheres portadoras de HSIL e comparado com 17 mulheres saudáveis que compunham o grupo controle. Todas as participantes do estudo não haviam se submetido previamente a nenhum tipo de tratamento para essas lesões ou câncer de colo uterino. Os dados antropométricos das participantes estão representados na **Tabela 1**. As idades foram estatisticamente semelhantes no grupo das pacientes com HSIL ($31,6 \pm 6,7$ anos) quando comparadas ao grupo controle ($35,7 \pm 5,4$ anos). Do mesmo modo, os valores de estatura foram iguais no grupo das mulheres portadoras de HSIL ($1,59 \pm 0,09$ m) vs o grupo controle ($1,63 \pm 0,11$ m). Da mesma forma, as medidas de massa corporal e IMC também se mostraram semelhantes entre os dois grupos analisados, com $70,01 \pm 16,08$ kg para pacientes com HSIL vs $68,88 \pm 25,01$ kg para grupo controle e $27,05 \pm 3,09$ Kg/m^2 vs $26,41 \pm 3,81$ Kg/m^2 , respectivamente). Por fim, o uso de anticoncepcional oral foi reportado por 53% das pacientes com HSIL e

26,7% de antidepressivos, enquanto que o grupo controle, 83,33% e 0%, respectivamente.

Parâmetro de dano oxidativo

A peroxidação lipídica, estimada pelos níveis de TBARS em sangue periférico, foi comparada entre pacientes com e sem HSIL e demonstrada na **Figura 1**. Os níveis de TBARs não apresentaram diferenças significativas entre os grupos analisados ($0,614 \pm 0,39$ mmol MDA/ml em mulheres com HSIL vs $0,557 \pm 0,32$ nmol MDA/ml em mulheres sem HSIL, $p \geq 0,05$).

Mediador de resposta inflamatória

As análises de MPO não revelaram diferença estatística significativa entre mulheres com HSIL e grupo controle ($2,145 \pm 0,91$ vs $1,719 \pm 0,75$ μ M de quinoneimina, respectivamente, $p \geq 0,05$, **Figura 2**).

Antioxidantes enzimáticos

Os níveis de atividade dos antioxidantes enzimáticos foram analisados e comparados com os de mulheres sem HSIL e reportados na **Figura 3**. A atividade da CAT apresentou-se significativamente menor nas pacientes selecionadas com HSIL quando comparada com o grupo controle ($0,026 \pm 0,12$ vs $0,065 \pm 0,29$ pmol/mg de proteína, respectivamente, $p < 0,05$, **Figura 3A**). 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 $0,0153 \pm 0,01$ mmol min⁻¹ ml⁻¹, respectivamente, $p \geq 0,05$, **Figura 3B**).

Antioxidantes não enzimáticos

Os valores para os antioxidantes não enzimáticos foram analisados e comparados com o grupo controle e dispostos na **Figura 4**. Foi verificado que os níveis de Vitamina C mostraram-se semelhantes entre ambos os grupos ($0,381 \pm 0,19$

mg/ml em pacientes com HSIL vs $0,493 \pm 0,13$ mg/ml no grupo controle, $p \geq 0,05$, **Figura 4A**), assim como os níveis de NPSH ($0,32 \pm 0,09$ $\mu\text{mol/ml}$ em mulheres com HSIL vs $0,44 \pm 0,089$ $\mu\text{mol/ml}$ no grupo controle, $p \geq 0,05$, **Figura 4B**). Já os valores de PSH demonstraram-se significativamente menores nas pacientes com as lesões uterinas ($0,72 \pm 0,15$ $\mu\text{mol/ml}$ em pacientes com HSIL vs $0,98 \pm 0,21$ $\mu\text{mol/ml}$ no grupo controle, $p < 0,05$, **Figura 4C**).

DISCUSSÃO

Encontram-se na literatura diversas pesquisas relacionando o estresse oxidativo, estado antioxidante e lesões intraepiteliais de alto grau.^{13 32-35} 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.

Em relação aos lipídios, 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.³⁶ O aumento dos níveis desses compostos pode ser atribuído à deficiência do mecanismo de defesa dos antioxidantes.³⁷ Em alguns estudos foram encontrados altos níveis de substâncias reativas aos TBARS na circulação de pacientes com câncer cervical recém-diagnosticados, sendo indicado como um marcador precoce do estresse oxidativo.³⁴
^{37 38} Kim et al. (2003) apontaram um aumento nas dosagens de MDA em pacientes com HSIL em relação a pacientes com câncer cervical e ainda sobre o grupo controle (LSIL e HSIL > câncer de colo uterino > controle). Tal fato paradoxal poderia ser atribuído a altas taxas de peroxidação lipídica nas fases iniciais da infecção, na qual o vírus seria capaz de induzir linfócitos polimorfonucleares a produzirem radicais livres de oxigênio.³³ Por outro lado, LOOI et al., (2008) apontaram aumento progressivo de MDA conforme malignidade da doença: grupo controle < LSIL e HSIL < câncer de colo uterino, sendo esse crescente relacionado a queda das defesas antioxidantes e a vulnerabilidade das células frente ao estresse oxidativo.³² Nesta pesquisa não foi observada diferença significativa entre esses marcadores nas pacientes com lesão de alto grau quando comparado ao controle. No entanto, um estudo mais amplo envolvendo outros estágios do desenvolvimento do câncer cervical, necessita ser desenvolvido para uma análise melhor do comportamento da

peroxidação lipídica no tumor cervical. Compreende-se também que a amostragem baixa também pode ter interferido nos resultados obtidos.

A MPO é uma enzima proveniente de leucócitos, principalmente neutrófilos envolvidos em processos inflamatórios teciduais, que catalisa a formação de diversas espécies reativas oxidantes.³⁹⁻⁴³ 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.^{39 40 44} Sua presença em níveis aumentados indica de forma indireta a quantidade de leucócitos recrutados durante a inflamação.⁴⁵ São relatados diferentes comportamentos da função leucocitária de acordo com os estágios tumorais. Observa-se uma redução da atividade dos leucócitos conforme a progressão da doença para câncer invasivo em relação à fase pré-cancerosa ou a mulheres saudáveis.⁴⁶ As pacientes com HSIL presente neste estudo não apresentaram diferenças significativas de MPO comparadas ao grupo controle, demonstrando que, da mesma forma, não se demonstrou redução da função leucocitária nesta fase que antecede o câncer, nem aumento da peroxidação lipídica em decorrência de estresse oxidativo. Dessa forma, sugere-se que esta mesma correlação seja realizada com pacientes com câncer de colo uterino a fim de averiguar alterações deste parâmetro com a progressividade da doença.

O grupo de mulheres com lesão cervical teve a atividade do antioxidante CAT diminuída quando comparadas ao grupo controle. Esta enzima faz parte da defesa antioxidante primária, protegendo contra danos celulares e moleculares causados por espécies reativas ao oxigênio. 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 uso exacerbado destas pelas células pré neoplásicas para agir em seu próprio metabolismo, podendo apresentar-se como um marcador mais precoce e/ou sensível do que o TBARS.^{32 37}

A conclusão das análises dos níveis de antioxidantes enzimáticos no sangue periférico de pacientes com HSIL estão de acordo com Looi et. al. (2008), que demonstrou uma diminuição significativa nos níveis de atividade enzimática da CAT em pacientes com HSIL e câncer de colo uterino quando comparado ao controle de mulheres saudáveis. Como resultado, a redução destas enzimas seria capaz de

contribuir para o aumento de H_2O_2 circulantes e assim, radicais hidroxilas e estresse oxidativo, que irão corroborar com o aumento de MDA, de mutações celulares e de transformação neoplásica.³²

De forma paradoxal, Maldonado et al. (2006) demonstraram uma maior atividade sanguínea de CAT em pacientes recém diagnosticados com HSIL quando comparados ao grupo controle.³⁴ Esse fato foi associado a um aumento rápido das defesas antioxidantes no início do desenvolvimento tumoral ou a alta produção pelas células do câncer nesta etapa. Sendo assim, mais pesquisas precisam ser realizadas para chegar a uma conclusão da alteração da atividade enzimática nas pacientes com HSIL.

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.³⁵ 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. Acredita-se que essa pequena diferença de aumento de GST pode ser considerada como uma adaptação de resposta ativa do hospedeiro frente ao estresse oxidativo causado pela ação viral.

Os 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.⁴⁷ Segundo Misra (1974), os PSH podem interagir diretamente com os radicais livres e serem oxidados a dissulfetos.⁴⁸ No presente 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 oposição, Gonçalves et al. (2005) avaliando os PSH no plasma de pacientes com LSIL, HSIL e carcinoma cervical não encontrou diferença significativa entre os grupos, nem mesmo quando comparado com o grupo controle, sugerindo que este antioxidante pode não apresentar alta sensibilidade para avaliar a progressão da doença.³⁸ No entanto, para uma melhor conclusão do papel do PSH nas pacientes com HSIL é necessário a realização de novos trabalhos com um número de amostragem maior.

Os demais antioxidantes não enzimáticos avaliados neste estudo se apresentaram semelhantes no grupo de mulheres com HSIL comparado às mulheres sem lesão cervical. O que pode estar relacionado à limitação do “n” amostral ou ao não consumo desses antioxidantes nessa etapa pré-cancerígena. A glutatona reduzida (GSH) é o principal excluente de radicais livres no organismo humano. A dosagem de 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.^{49 50} No mais, a glutatona redutase (GR) é uma importante enzima celular, e possui a função de reciclar a GSSG, mantendo a maior parte na sua forma reduzida (GSH). Sendo assim, baixos níveis de GSH e da atividade da GR podem ser perigosos para a célula, uma vez que estas estão relacionadas com a capacidade redutora do citosol, protegendo a célula contra processos oxidativos patológicos.⁵¹ Os resultados aqui apresentados mostraram-se semelhantes no consumo dos NPSH nas pacientes com HSIL e o grupo controle. Em oposição, o estudo *in vitro* realizado por Cruz-Gregório et al. (2018) com linhagens celulares cervicais transfectadas com plasmídeos virais do HPV, no qual relaciona a depleção da atividade da CAT e da expressão de GSH a ação da oncoproteína E6 dos HPVs 16 e 18 com intuito de aumentar o estresse oxidativo e facilitar o dano ao DNA.²⁰

Já Srivastava et al. (2009), encontraram índices progressivamente reduzidos de GSH em sangue periférico de pacientes com câncer de colo uterino, de acordo com o aumento no estadiamento da doença, porém, não avaliaram os níveis em pacientes com lesões pré-cancerosas.⁵² De forma contrária, Maldonado et al. (2006), reportaram aumento das taxas de GSH em estágios iniciais de lesões pré-cancerosas e relacionaram este fato a ação antioxidante inicial ainda alta ou a maior produtividade pelas células cancerosas na tentativa de estabelecer seu próprio sistema de defesa.³⁴ Por esse motivo, acredita-se que a ausência de diferença dos níveis de NPSH entre os grupos analisados no presente estudo possa estar relacionado também à níveis intermediários da capacidade antioxidante da GSH nesta etapa da diferenciação das células infectadas, em decorrência da redução do *status* basal do hospedeiro e aumento da produção antioxidante pelo próprio metabolismo pré-canceroso à medida em que o estresse oxidativo se eleva, a fim de favorecer a progressão tumoral.

A vitamina C possui capacidade de combater o estresse oxidativo ao reagir diretamente com O_2^- e OH^- e demais hidroperóxidos lipídicos, além de inibir a

formação de nitrosaminas.⁵³ Além disso, em experimentos com modelos celulares SiHa, uma linhagem presente no câncer cervical, a associação de vitamina C com o antineoplásico cisplatina aumentou a indução apoptótica por meio da via p53.⁵⁴ O que vai de acordo com estudos que evidenciam que a suplementação alimentar de vitamina C pode reduzir o risco de desenvolvimento de HSIL em mulheres infectadas por HPV de alto risco, já que representa importante papel na imunidade precoce e reação antioxidante no para o epitélio cervical.⁵⁵ ¹² Lee et al. (2005) demonstraram uma diminuição nos níveis plasmáticos dessa vitamina em mulheres com HSIL quando comparado com o grupo controle.¹² No presente estudo os valores para vitamina C se mostraram semelhantes nas pacientes com lesões precursoras do câncer cervical quando comparado com o controle. No entanto, pode-se pensar que em um estudo com amostragem maior haja a possibilidade de se encontrar resultados semelhantes ao encontrado por Lee et al. (2005).¹²

Observou-se, em geral, que o *status* antioxidante parece estar diminuído em pacientes com HSIL, o que corrobora com o estudo publicado por Kim et al. (2003), no qual encontrou-se dosagens diminuídas de antioxidantes totais em pacientes com esta patologia, além de redução gradativa desses níveis a medida em que o câncer se torna invasivo. Este fato pode indicar a capacidade de modulação das células infectadas pelo HPV de controle sobre as defesas antioxidantes do hospedeiro, a fim de favorecer a progressão tumoral.³³

CONCLUSÃO

Os resultados apresentados neste trabalho indicam a possibilidade de haver um desequilíbrio entre os pró-oxidantes e antioxidantes em pacientes com lesão cervical precursora de câncer de colo uterino, apontando que o estresse oxidativo pode estar intimamente relacionado com os estágios iniciais da carcinogênese. Os resultados dos níveis diminuídos de CAT em mulheres com HSIL quando comparado com o controle indicam a possível ocorrência de uma maior exaustão da atividade dessa enzima na eliminação de radicais livres gerados pela atividade viral das células pré-neoplásicas ou sua captura por tais células a fim de promover o aumento do estresse oxidativo e facilitar sua incorporação e progressão tumoral no metabolismo hospedeiro. Da mesma forma, os valores significativamente menores para PSH nas pacientes com lesão precursora de carcinoma de colo uterino

evidenciam um possível aumento de produção de radicais livres levando a um consumo dessas substâncias e conseqüentemente diminuição no organismo. Embora neste estudo pode-se observar uma grande quantidade de medições não significativas que podem ter sido afetadas pela baixa amostragem alcançada em decorrência do período de coleta durante a pandemia da COVID-19, observaram-se modificações do perfil oxidativo nas pacientes com HSIL quando comparado as pacientes saudáveis, principalmente no que tange à redução de antioxidantes nas pacientes com lesão cervical. No entanto, há algumas divergências na literatura sobre o perfil de alteração do estresse oxidativo nas pacientes com HSIL. Sendo assim, uma continuação desse estudo com maior amostragem se faz necessária para melhor elucidação.

REFERÊNCIAS

1. Solomon D, Kurman DDR, Moriarty A, et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA* 2002; 287 (16): 2114-9.
2. Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer (INCA). Neoplasia Intra-epitelial Cervical - NIC. *Rev Bras Cancerol* 2000; 46 (4): 355-57.
3. Aidé S, Almeida G, Val I, et al. Neoplasia Intraepitelial Cervical. 2009; 21 (4): 166-170.
4. Ostör AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: A critical review. *Int J Gynecol Pathol* 1993; 12: 186-92.
5. Vale DB, Westin MC, Zeferino LC. High-grade squamous intraepithelial lesion in women aged <30 years has a prevalence pattern resembling low-grade squamous intraepithelial lesion. *Cancer Cytopathology* 2013; 121 (10), 576–581.
6. Instituto Nacional do Câncer (INCA). Câncer do colo do útero. Ministério da Saúde, agosto de 2021. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-do-colo-do-utero>>. Acesso em: 09 de setembro de 2021.
7. Cohen PA, Jhingran A, Oaknin A, et al. Cervical cancer. *Lancet* 2019; 393 (10167): 169-182.
8. Schiffman M, Doobar J, Wentzensen N, et al. Carcinogenic human papillomavirus infection. *Nat Rev Dis Primers* 2016; 2: 1-20.
9. Hochmann J, Parietti F, Martínez J, et al. Human papillomavirus type 18 E5 oncoprotein cooperates with E6 and E7 in promoting cell viability and invasion and in modulating the cellular redox state. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2020; 115: 1-11.
10. Mello P de A, Filippi-Chiela EC, Nascimento J, et al. Adenosine uptake is the major effector of extracellular ATP toxicity in human cervical cancer cells. *Mol Biol Cell* 2014; 25: 2905-18.
11. Mazibrada J, Rittà M, Mondini M, et al. Interaction between inflammation and angiogenesis during different stages of cervical carcinogenesis. *Gynecol Oncol* 2008; 109: 112-20.
12. Lee GJ, Chung HW, Lee KH, et al. Antioxidant Vitamins and Lipid Peroxidation in Patients with Cervical Intraepithelial Neoplasia. *J Korean Med Sci* 2005; 20: 267-7
13. Kim YT, et. al. Relation between deranged antioxidant system and cervical neoplasia. *Int J Gynecol Cancer* 2004; 14 (5): 889-95.
14. Pisoschi A, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem* 2015; 97: 55-74.
15. Murata M. Inflammation and cancer. *Environ Health Prev Med* 2018; 23: 1-8.
16. Silva GÁF, Nunes RAL, Morale MG, et al. Oxidative stress: therapeutic approaches for cervical cancer treatment. *Clinics* 2018; 73: 1-10.
17. Cruz-Gregorio A, Manzo-Merino J, Lizano M. Cellular redox, cancer and human papillomavirus. *Virus Res* 2018b; 246: 35-45.
18. Velloso JCR, Biavatti M, França PCO et al. Estresse oxidativo: uma introdução ao estado da arte. *Brazilian Journal of Development* 2021; 7(1): 10152-10168.
19. Calaf GM, Urzua U, Termini L, et al. Oxidative stress in female cancers. *Oncotarget* 2018; 9: 23824–42.
20. Cruz-Gregorio A, Manzo-Merino J, González-García MC, et al. Human papillomavirus types 16 and 18 early-expressed proteins differentially modulate the cellular redox state and DNA damage. *Int J Biol Sci* 2018a; 14: 21-35.
21. Beevi SS, Rasheed MH, Geetha A. Evidence of oxidative and nitrosative stress in patients with cervical squamous cell carcinoma. *Clin Chim Acta* 2007; 375: 119–23.
22. Rover LJ, Hoehr NF, Vellasco AP. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. *Quim Nova* 2001; 24: 112-119.
23. Marshall K. Cervical dysplasia: early intervention. *Altern Med Rev* 2003; 8: 156-66.
24. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica, Diretrizes Brasileiras de Obesidade. ABESO. 4 (2016).
25. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72, 248.
26. Jentzsch AM, Bachmann H, Fürst P et al. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radic Biol Med* 1996; 20: 251–256.
27. Kayyali US, Moore TB, Randall, JC et al. Neurotoxic esterase (NTE) assay: optimized conditions based on detergent-induced shifts in the phenol/4-aminoantipyrine chromophore spectrum. *J Anal Toxicol* 1991; 15: 86-89.

28. Nelson DP, Kiesow LA. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25 degrees C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV), *Anal. Biochem* 1972; 49: 474–478.
29. Warholm M, Guthenberg C, Von Bahr C. et al. Glutathione transferases from human liver. *Meth. Enzymol* 1985; 113: 499-504.
30. Roe J, Kuether C. The determination of ascorbic acid in whole blood and urine through the 2,4-dinitrophenylhydrazine derivatives of dehydroascorbic acid. *J Biol Chem* 1943; 147: 399-407.
31. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959; 82: 70-77.
32. Looi ML, Mohd Dali AZ, Md Ali SA, et al. Oxidative damage and antioxidant status in patients with cervical intraepithelial neoplasia and carcinoma of the cervix. *Eur J Cancer Prev* 2008; 17: 555-60.
33. Kim SY, Kim JW, Ko YS, et al. Changes in lipid peroxidation and antioxidant trace elements in serum of women with cervical intraepithelial neoplasia and invasive cancer. *Nutr Cancer* 2003; 47: 126–30.
34. Maldonado PA, Negrini LA, Kaizer RR, et al. Oxidative status in patients submitted to conization and radiation treatments for uterine cervix neoplasia. *Clin Chim Acta* 2006; 366: 174-8.
35. Jelić M, Mandić A, Kladar N, et al. Lipid peroxidation, antioxidative defense and level of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in cervical cancer patients. *J Med Biochem* 2018; 37: 336–45.
36. Manoharan S, Kalanjiappan K, Kayalvizhi M. Enhanced Lipid peroxidation and impaired enzymic antioxidant activities in the erythrocytes of patients with cervical carcinoma. *Cell Mol Biol Lett* 2004; 9 (4A): 699-707.
37. Manju V, Kalaivani Sailaja J, Nalini N. Circulating lipid peroxidation and antioxidant status in cervical cancer patients: a case-control study. *Clin Biochem* 2002; 35: 621-25.
38. Gonçalves TL, Erthal F, Corte CLD, et al. Involvement of oxidative stress in the pre-malignant and malignant states of cervical cancer in women. *Clinical Biochemistry* 2005; 38: 1071–1075.
39. Roman, RM, Wendland, AE, Polanczyk, CA. Myeloperoxidase and coronary arterial disease: from research to clinical practice. *Arq Bras Cardiol* 2008, 91: 11-9.
40. Ambrosone CB, Barlow WE, Reynolds W, et al. Myeloperoxidase genotypes and enhanced efficacy of chemotherapy for early-stage breast cancer in SWOG-8897. *J Clin Oncol* 2009; 27(30): 4973-9.
41. He C, Tamimi RM, Hankinson SE et al. A prospective study of genetic polymorphism in MPO, antioxidant status, and breast cancer risk. *Breast Cancer Res Tr.* 2009; 113(3): 585-94.
42. Koduru B, Tejaswini, Thakur A, et al. Indicators of oxidative stress in thyroid cancer. *Indian J Biochem Bio* 2010; 47 (2): 121–3.
43. do Carmo RF, de Almeida DB, Aroucha DCBL, et al. Plasma myeloperoxidase levels correlate with hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C. *Hum Immunol.* 2012; 73(11): 1127-31.
44. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukocyte Biol* 2005; 77: 598-625.
45. Baldus S, Heitzer T, Eiserich JP, et al. Myeloperoxidase enhances nitric oxide catabolism during myocardial ischemia and reperfusion. *Free Radic Biol Med* 2004; 37(6): 902-11.
46. Fernandes PC Jr, Garcia CB, Micheli DC, et al. Circulating neutrophils may play a role in the host response in cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2007; 17(5): 1068-74.
47. Moran LK, Gutteridge JMC, Quinlan GJ. Thiols in cellular redox signalling and control. *Rev Curr Med Chem* 2001; 8 (7): 763-72.
48. Misra HP. Generation of superoxide free-radical during autoxidation of thiols. *J Biol Chem* 1974; 249: 2151–5.
49. Souza LC, Wilhelm EA, Bortolatto CF, et al. The protective effect of melatonin against brain oxidative stress and hyperlocomotion in a rat model of mania induced by ouabain. *Behav Brain Res* 2014; 271: 316-324.
50. Townsend DM, Tew kd, Tapiero H. The importance of glutathione in human disease. *Biomed Pharmacother* 2003; 57: 145-155.
51. Walther, U.I. et al. Enhancing glutathione synthesis can decrease zinc-mediated toxicity. *Biol. Trace Element Res* 2008; 122: 216-228.
52. Srivastava, S. et al. Lipid peroxidation and antioxidants in different stages of cervical cancer: Prognostic significance. *Indian journal of cancer* 2009; 46(4): 297.
53. Naidu MSK, Suryakar AN, Swami SC, et al. Oxidative stress and antioxidant status in cervical cancer patients. *Indian J Clin Biochem* 2007; 22: 140-144.
54. Leekha A, Gurjar BS, Tyagi A, et al. Vitamin C in synergism with cisplatin induces cell death in cervical cancer cells through altered redox cycling and p53 upregulation. *J Cancer Res Clin Oncol* 2016; 142: 2503-14.

55. Hwang JH, Kim MK, Lee JK. Dietary supplements reduce the risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Gynecol Cancer* 2010; 20: 398-403.

TABELA**Tabela 1. Características gerais das participantes do estudo com HSIL e grupo controle.**

| | Pacientes com HSIL | Grupo Controle |
|---|---------------------------|-----------------------|
| Idade (anos) ¹ | 31,6±6,7 | 35,7±5,4 |
| Estatura (m) ¹ | 1,59±0,09 | 1,63±0,11 |
| Massa Corporal (Kg) ¹ | 68,88±25,01 | 70,01± 16,08 |
| IMC (Kg/m ²) ¹ | 27,05±3,09 | 26,41±3,81 |
| Uso de Anticoncepcional Oral ² | 53% | 83,33% |
| Uso de Antidepressivos ² | 26,70% | 0% |

1 Os dados estão apresentados com média e desvio padrão.

2 Os dados estão apresentados em porcentagem

FIGURAS

Figura 1

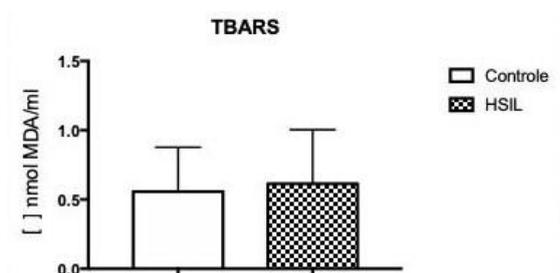


Figura 2

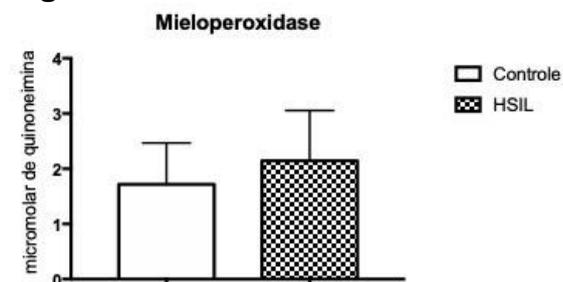


Figura 3

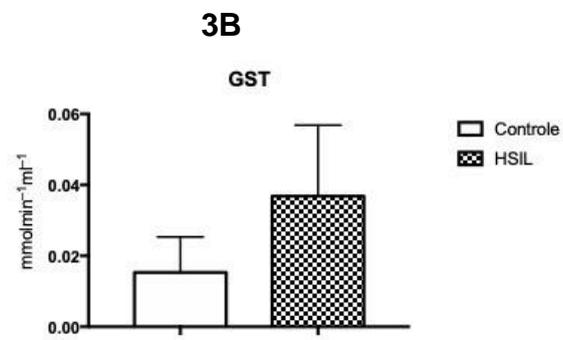
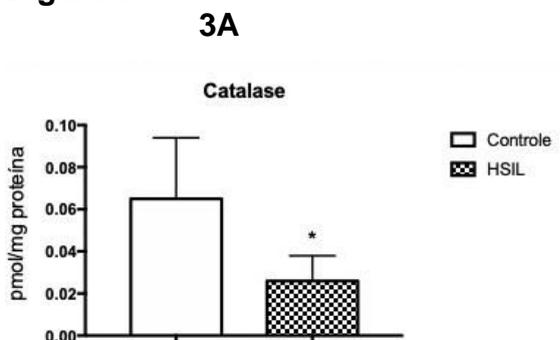
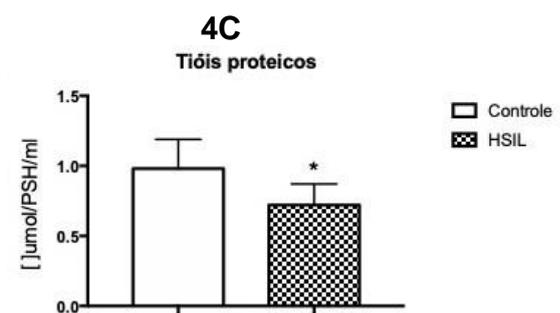
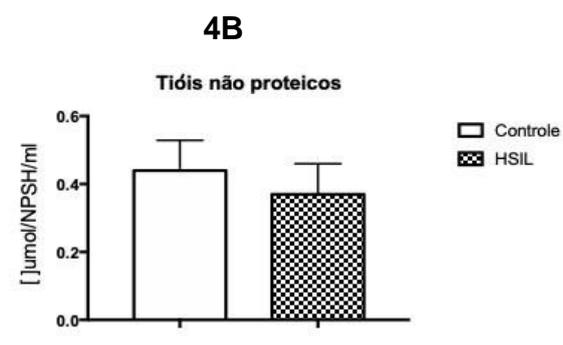
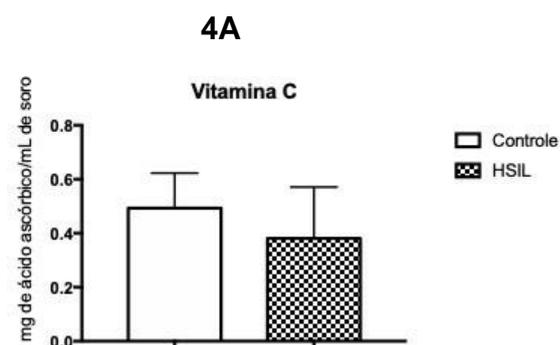


Figura 4



TÍTULOS E LEGENDAS DAS FIGURAS

Figura 1. Parâmetros de dano oxidativo. Mostra os resultados das análises dos parâmetros de dano oxidativo por peroxidação lipídica. Nas mulheres com HSIL, os níveis de TBARs apresentaram-se semelhantes aos de mulheres saudáveis ($0,614\pm 0,39$ vs $0,557\pm 0,32$ nmol MDA/ml, respectivamente, $p\geq 0,05$). A análise estatística utilizada foi o teste *U de Mann-Whitney*.

Figura 2. Parâmetros de resposta inflamatória. Apresenta os resultados das análises de parâmetros de resposta inflamatória. A MPO apresentou-se semelhante entre pacientes com HSIL quando comparado ao grupo controle ($2,145\pm 0,91$ vs $1,719\pm 0,75$ μ M de quinoneimina, respectivamente, $p\geq 0,05$). A análise estatística utilizada foi o teste *U de Mann-Whitney*.

Figura 3. Antioxidantes enzimáticos. Apresenta os resultados das análises de antioxidantes enzimáticos. A atividade da CAT apresentou-se menor nas pacientes selecionadas com HSIL quando comparada com o grupo controle ($0,026\pm 0,12$ vs $0,065\pm 0,29$ pmol/mg de proteína, respectivamente), $p< 0,05$, **Figura 3A**). Já os valores da GST apresentaram uma tendência a serem maiores nas pacientes com lesão de alto grau em relação ao grupo controle ($0,0368\pm 0,02$ vs $0,0153\pm 0,01$ mmol min^{-1} ml^{-1} , respectivamente, $p\geq 0,05$, **Figura 3B**). A análise estatística utilizada foi o teste *U de Mann-Whitney*. O "*" indica diferença entre os grupos, considerando $p< 0,05$.

Figura 4. Antioxidantes não enzimáticos. Mostra os resultados das dosagens dos antioxidantes não enzimáticos. Pacientes com HSIL tiveram resultados de Vitamina C semelhantes ao grupo controle ($0,381\pm 0,19$ vs $0,493\pm 0,13$ mg/ml, respectivamente, $p\geq 0,05$, **Figura 4A**), assim como de NPSH ($0,32\pm 0,09$ μ mol/ml em mulheres com lesões precursoras vs $0,44\pm 0,089$ μ mol/ml para o grupo controle, $p\geq 0,05$, **Figura 4B**). O nível de PSH foi significativamente menor em mulheres com lesões cervicais do que entre o grupo controle ($0,72\pm 0,15$ vs $0,98\pm 0,21$ μ mol/ml, respectivamente, $p< 0,005$, **Figura 4C**). A análise estatística utilizada foi o teste *U de Mann-Whitney*. O "*" indica diferença entre os grupos, considerando $p< 0,05$.