



## DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS CARBONILADAS EM AMOSTRAS DE CÉLULAS DISPLÁSICAS DO COLO DO ÚTERO

Nathalia Billig Garces<sup>1</sup>, Thais Patricia Hammes<sup>2</sup>, Lara Kochenberger<sup>3</sup>  
Tatiana Mugnol<sup>4</sup>, Roberta Cattaneo Horn<sup>5</sup>, Janaina Coser

**Palavras-chave:** Estresse Oxidativo. Neoplasias do Colo do Útero. Displasia do Colo do Útero. Biomarcadores.

### 1 INTRODUÇÃO

O câncer do colo do útero é um importante problema de saúde pública, sendo o sétimo câncer mais incidente mundialmente, e o quarto tipo mais frequente na população feminina (FERLAY et al., 2013). Esta neoplasia é precedida por lesões precursoras, denominadas lesões intraepiteliais escamosas e o papilomavírus humano (HPV) é seu agente etiológico (ZUR HAUSEN, 2009).

A infecção genital por HPV é necessária, mas não suficiente para o desenvolvimento do tumor (SENEPATI et al., 2016). Dentre outros fatores, o estresse oxidativo parece ter relação com a carcinogênese cervical, sendo considerado um cofator na estimulação da integração viral e na desregulação de oncogenes celulares e virais durante a progressão do carcinoma cervical (CARRERO et al., 2009).

As proteínas são o principal alvo para o dano oxidativo. A oxidação proteica é uma modificação covalente induzida diretamente pelas espécies reativas ou indiretamente por reação com produtos secundários do estresse oxidativo (DALLE-DONNE et al., 2006). As Proteínas Carboniladas são um bom biomarcador de dano oxidativo grave das proteínas (DALLE-DONNE et al., 2003). Diante do exposto, o objetivo do estudo foi analisar os níveis das PCs em amostras de células displásicas do colo do útero.

### 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo experimental, quantitativo, descritivo e analítico, aprovado por Comitê de Ética em Pesquisa (parecer nº 2.790.225). Treze mulheres que realizaram rastreamento citológico do colo do útero em serviços de saúde pública em uma cidade do Sul do Brasil, no

<sup>1</sup> Bolsista PROBIC/FAPERGS/Unicruz de agosto de 2018 a julho de 2019. Discente do curso de Biomedicina da Universidade de Cruz Alta - Unicruz, Cruz Alta, Brasil. E-mail: nathaliabgarces@hotmail.com

<sup>2</sup> Biomédica, graduada pela Universidade de Cruz Alta - Unicruz, Cruz Alta, Brasil. E-mail: paty\_cris18@hotmail.com

<sup>3</sup> Discente do curso de Biomedicina da Universidade de Cruz Alta - Unicruz, Cruz Alta, Brasil. E-mail: lara\_0884@hotmail.com; nathaliabgarces@hotmail.com

<sup>4</sup> Biomédica, graduada pela Universidade de Cruz Alta - Unicruz, Cruz Alta, Brasil. Bolsista PIBITI – CNPq de agosto de 2018 a julho de 2019. E-mail: tatimugnol@hotmail.com

<sup>5</sup> Pesquisadoras do Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em Saúde - GIPS, Docentes da Universidade de Cruz Alta - Unicruz, Cruz Alta, Brasil. E-mail: rcattaneo@unicruz.edu.br; coser@unicruz.edu.br

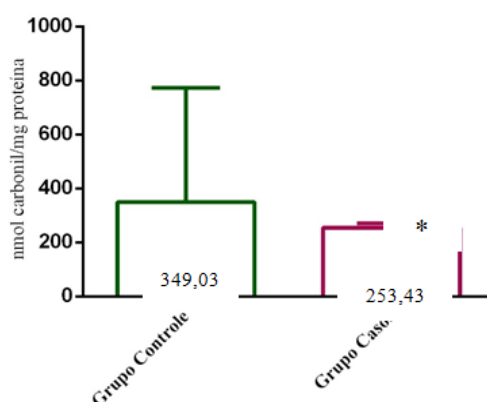


período de setembro de 2018 a abril de 2019, foram selecionadas para compor a amostra. Estas foram divididas em dois grupos: (1) Grupo controle (n=10) incluiu mulheres com resultado de Papanicolaou “negativo para lesão intraepitelial ou malignidade”, com avaliação citológica “dentro dos limites da normalidade” e flora bacteriana composta por *Lactobacillus* sp; (2) Grupo de casos (n=3) incluiu mulheres com resultado de Papanicolaou sugestivo de lesões intraepiteliais escamosas (2 casos de lesão intraepitelial escamosa de baixo grau – LSIL e um caso lesão intraepitelial escamosa de alto grau – HSIL). Todas as participantes foram submetidas a coleta de amostras citológicas, submetidas a análise citopatológica e determinação dos níveis de PCs. A análise citopatológica foi realizada pela técnica de Papanicolaou e os resultados descritos de acordo com o Sistema Bethesda (NAYAR; WILBUR, 2015). A avaliação *in vitro* dos níveis de PCs foi baseada na técnica descrita por Levine (1990), com adaptações e as leituras realizadas em espectrofotômetro visível, cujos resultados foram expressos por nmol de proteína carbonilada/mg de proteína total. Os resultados citológicos foram apresentados de forma descritiva e as determinações analíticas de PCs foram expressas por média  $\pm$  SEM (erro padrão), com realização de teste t para amostras independentes, considerando valores estatisticamente significativos quando  $p < 0,05$ .

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A idade das participantes incluídas no estudo variou entre 21 e 60 anos (37,46 anos  $\pm$  13,02). As mulheres do grupo controle tinham idade média de 37,9  $\pm$  12,79 anos e as do grupo de casos 36  $\pm$  16,64 anos. Observamos que a média dos níveis de PCs no grupo controle (349,03  $\pm$  424,24 nmol carbonil/mg proteína) foi significativamente maior em comparação ao grupo de casos (253,43  $\pm$  16,83 nmol carbonil/mg proteína) ( $p=0,0031$ ) (Figura).

Figura – Média dos níveis de Proteínas Carboniladas em amostras de células do colo do útero de mulheres atendidas em serviços de saúde de Cruz Alta, RS



Fonte: Banco de dados da pesquisa (2019). PCs = Proteínas Carboniladas.

\*  $p=0,0031$



Nossos dados diferem do estudo conduzido por De Marco et al. (2013), onde os níveis de PCs estavam significativamente aumentados nos tecidos displásicos em relação às amostras controles. No entanto, neste estudo, os autores utilizaram amostras histológicas e metodologia por biologia molecular, já em nossa pesquisa usamos amostras celulares e metodologia de Levine (1990).

As PCs são indicadores de dano oxidativo grave nas proteínas celulares, por serem quimicamente estáveis. Assim, a oxidação de proteínas resulta em proteínas modificadas e seu acúmulo leva a alterações da função celular (GEORGESCU et al., 2018). A diminuição de PCs sugere que níveis reduzidos da oxidação estão associados a uma recuperação da atividade enzimática, representando um mecanismo de sobrevivência, tornando estas células mais resistentes aos estímulos do estresse oxidativo, mantendo sua proliferação (COLELL; RICCI, 2009).

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados podem contribuir com esclarecimentos sobre a relação do estresse oxidativo com displasia do colo uterino, pois sugerem uma recuperação da atividade enzimática, como mecanismo de sobrevivência das células displásicas para manutenção de sua proliferação. Neste sentido, os marcadores de estresse oxidativo podem ser úteis para a compreensão da carcinogênese cervical. Portanto novos estudos são necessários para elucidar essa relação.

#### REFERÊNCIAS

CARRERO, Y; et al. Increased vascular endothelial growth factor expression, CD3-positive cell infiltration, and oxidative stress in premalignant lesions of the cervix. **Cancer**, v. 115, n. 16, p. 3680-3688, 2009.

COLELL, A; GREEN, DR; RICCI, JE. Novel roles for GAPDH in cell death and carcinogenesis. **Cell Death & Differentiation**, v. 16, p. 1573–1581, 2009.

DALLE-DONNE, I; et al. Protein carbonylation in human diseases. **Trends in Molecular Medicine**, v. 9, p. 169-176, 2003.

DALLE-DONNE, I; et al. Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 10, p. 389-406, 2006.

DE MARCO, F. Oxidative stress and HPV carcinogenesis. **Viruses**, v. 5, n. 2, p. 708-31, 2013.



FERLAY, J; et al. Cancer incidence and mortality worldwide. **Globocan**, v. 1.0, Lyon, France: IARC, 2013.

GEORGESCU, SR; et al. New insights in the pathogenesis of HPV infection and the associated carcinogenic processes: the role of chronic inflammation and oxidative stress. **Journal of immunology research**, v. 2018, 2018.

LEVINE, RL; et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 464-478, 1990.

NAYAR, R; WILBUR, DC. **The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology**. 3 ed. Estados Unidos: Springer, 2015.

SENEPATI, R; et al. Molecular mechanisms of HPV mediated neoplastic progression. **Infectious Agents and Cancer**, 2016.

ZUR HAUSEN, H. Papillomaviruses in the causation of human cancers — a brief historical account. **Virology**, v. 384, p. 260-265, 2009.