



Evento	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2015
Local	Porto Alegre - RS
Título	Análise imunocitoquímica da expressão de S100A4 em amostras cervicais normais, inflamatórias e com lesões precursoras do câncer cervical
Autor	DEBORA RENZ BARRETO VIANNA
Orientador	DIOGO ANDRE PILGER

Análise imunocitoquímica da expressão de S100A4 em amostras cervicais normais, inflamatórias e com lesões precursoras do câncer cervical

Autora: Débora Renz Barreto Vianna

Orientador: Diogo André Pilger

Instituição: Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Introdução: A identificação de lesões precursoras do câncer de colo de útero é essencial para o prognóstico da doença, resultando em excelentes índices de cura das mulheres acometidas por essa neoplasia. A infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV), agente etiológico mais relacionado à carcinogênese cervical, resulta em alterações na expressão gênica. A proteína S100A4 é fisiologicamente expressa em diversos tipos celulares, atuando nos processos de diferenciação, proliferação e inflamação, sendo descrito o aumento de sua expressão em várias neoplasias, associado à capacidade de progressão e metástase tumoral. A pesquisa de novos biomarcadores que facilitem a identificação das lesões precursoras pode contribuir para a redução dos casos em que há alta morbimortalidade devido ao diagnóstico tardio. **Objetivo:** Avaliar a variação da expressão da proteína S100A4 em amostras de esfregaço cervical de pacientes com epitélio do colo uterino normal, inflamatório e com lesões intraepiteliais, relacionando à presença do HPV. **Metodologia:** As amostras de esfregaço cervical foram coletadas com escova *citobrush*, a qual foi utilizada para disposição em lâminas de microscopia. Para análise citológica, as amostras foram coradas através da metodologia de Papanicolaou e classificadas de acordo com o Sistema Bethesda 2001. Para análise imunocitoquímica da S100A4 foi utilizado o *kit Starr Trek Universal HRP Detection (Biocare Medical)*. Resumidamente, após lavagens as lâminas foram incubadas em tampão citrato e, em seguida, em peróxido de hidrogênio 5%. Então, realizaram-se as incubações com o anticorpo primário, com o anticorpo secundário biotilado e com a enzima peroxidase. Após, as lâminas foram lavadas com PBS e incubadas com solução reveladora de diaminobenzidina. Por fim, foi realizada a contra-coloração dos núcleos com Hematoxilina de Harris, amônia e concentrações crescentes de álcool, e a posterior clarificação com xilol. Os campos visualizados em microscopia óptica foram fotografados e classificados de acordo com a intensidade de marcação castanho-dourada nas células, de 0 a 3 cruces. Como controle da expressão da proteína, foram utilizadas linhagens imortalizadas de queratinócitos, fibroblastos, câncer cervical e câncer de mama (HaCaT, MRC-5, SiHa e HeLa, e MCF-7, respectivamente), cujos padrões de expressão já estão descritos na literatura. Como controle negativo da técnica, partes de amostras e linhagens não foram incubadas com anticorpo primário, apenas com PBS. Paralelamente, as amostras foram testadas para a presença do HPV pela técnica de PCR. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética da UFRGS. **Resultados e Discussão:** Em células de epitélio normal observou-se que a expressão de S100A4 diminui conforme aumenta a maturação celular, provavelmente devido à progressiva perda fisiológica das características proliferativas. Em amostras de epitélio inflamatório, notou-se um aumento na expressão da proteína, possivelmente devido ao envolvimento dessa proteína com a inflamação. Já em células de epitélio com lesões precursoras, com presença de HPV evidenciada, observou-se uma diminuição da expressão da proteína. Sabe-se que a variação no padrão de metilação do DNA pode resultar em alteração na expressão gênica e, dessa forma, sugere-se que uma possível hipermetilação do DNA originada pelas propriedades moleculares do vírus em infecção ativa, resultem no silenciamento da expressão da S100A4. **Conclusão:** A análise da expressão da proteína S100A4 poderia auxiliar no diagnóstico das lesões intraepiteliais precursoras do câncer de colo do útero, sendo utilizada como ferramenta complementar ao exame citológico preventivo, por atuar como um potencial biomarcador de exposição ao HPV e de lesão intraepitelial.