

Validação da técnica de imunocitoquímica para avaliação da expressão da proteína S100A4 em amostras cervicais



Débora Renz Barreto Vianna, Diogo André Pilger

Laboratório de Análises Bioquímicas e Citológicas (LABC), Departamento de Análises, Faculdade de Farmácia, UFRGS

INTRODUÇÃO

O câncer de colo de útero é uma das neoplasias com maior prevalência na população feminina brasileira e o diagnóstico precoce dessa doença através da detecção de lesões precursoras e de biomarcadores é um fator determinante para o sucesso do tratamento. A proteína S100A4 é fisiologicamente expressa em diversos tipos celulares e tem sido descrita na literatura a relação entre sua elevada expressão e a capacidade de progressão e metástase de vários tumores, incluindo o cervical. Assim, objetiva-se validar a técnica de imunocitoquímica para avaliação da expressão de S100A4 em células de esfregaços cervicais como método auxiliar no diagnóstico inicial e no prognóstico do câncer de colo de útero.

METODOLOGIA



Figura 1. Fluxograma do processo de execução da técnica de imunocitoquímica aplicada em amostras de esfregaço cervical para marcação da proteína S100A4.

Linhagens celulares de queratinócitos (HaCaT) e de câncer cervical (SiHa e HeLa) foram utilizadas como controle positivo, pois, conforme descrito na literatura, expressam a proteína estudada. Essas foram cultivadas sobre lamínulas circulares em placas de 24 poços e, quando atingiram a confluência desejada, foram tratadas da mesma forma que as amostras de esfregaço cervical. Como controle negativo da técnica, uma região de cada lâmina foi incubada apenas com PBS, sem o anticorpo primário, assim como alguns dos poços em que as linhagens foram cultivadas. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS sob nº 562.824.

RESULTADOS

	Expressão de S100A4	Controle Negativo
HaCaT		
SiHa		
HeLa		
Amostra		

Figura 2. Fotografias em microscopia óptica (400x) de linhagens e amostra. Imagens à esquerda representam células com expressão de S100A4 evidenciada, enquanto imagens à direita representam os controles negativos da técnica, que não foram submetidos à incubação com anticorpo primário.

As três linhagens expressaram a proteína, sendo que na SiHa e na HeLa houve expressão de moderada à intensa na maioria dos campos visualizados, enquanto que nos queratinócitos (HaCaT) a expressão foi moderada. Dentre as amostras cervicais analisadas até o momento, que se enquadram como negativas para lesão intra-epitelial, constatou-se que a expressão da S100A4 varia de acordo com o grau de maturação das células do epitélio escamoso estratificado, sendo mais expressa nas células imaturas. Também foi observado que a expressão da referida proteína é mais intensa na presença de alterações celulares inflamatórias benignas.

Basal	Para-basal	Intermediária	Superficial

Figura 3. Fotografias em microscopia óptica (1000x) de células com diferentes graus de maturação do epitélio da ectocérvice, marcadas para S100A4.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos, que corroboraram com as expectativas propostas, poderão ser utilizados como padrão de comparação para futuras análises com pacientes, através das quais será possível estabelecer se a S100A4 poderá atuar como biomarcadora da progressão tumoral.