

# 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.