

# **CONIC-SEMESP** 13º Congresso Nacional de Iniciação Científica

Anais do Conic-Semesp. Volume 1, 2013 - Faculdade Anhanguera de Campinas - Unidade 3. ISSN 2357-8904

**TÍTULO:** EXPRESSÃO DA PROTEINA ANEXINA A1 E SEU RECEPTOR FPR EM NEOPLASIAS CEREBRAIS - ASTROCITOMAS

**CATEGORIA:** EM ANDAMENTO

**ÁREA:** CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SAÚDE

**SUBÁREA:** MEDICINA

**INSTITUIÇÃO:** FACULDADES INTEGRADAS PADRE ALBINO

**AUTOR(ES):** MARYAM BUAINAIN TADEI, MATHEUS VICENTE MAYORQUIM

**ORIENTADOR(ES):** ANA PAULA GIROL

**COLABORADOR(ES):** MAIRTO ROBERIS GEROMEL

Realização:



Apoio:



## 1. RESUMO

Os astrocitomas representam a maioria dos gliomas cerebrais e podem ser classificados em tumores de graus 1 a 4 (ou glioblastoma - GBM). Os principais desafios no controle da doença estão relacionados à sua grande capacidade metastática e forte resistência das células do GBM a apoptose induzida por terapia. Estudos têm mostrado que a proteína anexina A1 (ANXA1) modula a resistência a drogas em tumores e regula o processo de migração/invasão celular. A expressão do receptor para peptídeos formilados (FPR) pode estar intimamente relacionada com a expressão da ANXA. Nesta investigação analisamos a expressão de ANXA1 e FPR, por imuno-histoquímica, em tecidos cerebrais controle e nos astrocitomas de graus 2, 3 e 4. A superexpressão da ANXA1 e do FPR nos astrocitomas de graus 3 e 4, mais agressivos e de pior prognóstico, parece indicar a correlação da proteína com o FPR nos processos de proliferação celular.

## 2. INTRODUÇÃO

Os gliomas são as malignidades primárias mais comuns do sistema nervoso central e constituem um grupo heterogêneo de tumores, dentre os quais os astrocitomas representam a maioria. Com base em critérios histopatológicos, imuno-histoquímicos e ultraestruturais, os astrocitomas podem ser classificados em quatro tipos diferentes de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS). Os astrocitomas de graus 1 e 2 representam os tumores de crescimento lento e menos agressivos, enquanto os de graus 3 e 4 (ou glioblastoma – GBM) são gliomas malignos caracterizados pela alta taxa de proliferação e potencial metastático.

A anexina A1 (ANXA1) é uma proteína de 37 kDa que exhibe sítios de ligação ao cálcio e aos fosfolipídios de membrana. Pode ser encontrada em diversos tipos celulares e, especialmente, em células relacionadas aos processos de defesa e apresenta múltiplas funções em diferentes sistemas. Recentemente, foi demonstrado que a proteína ANXA1 pode controlar o crescimento tumoral por meio de mecanismos parácrinos mediados pelo receptor para peptídeos formilados (FPR). Entretanto, como os mecanismos de ação pelos quais a proteína atua na biologia tumoral são ainda pouco conhecidos, especialmente nos gliomas, o objetivo das

nossas investigações foi avaliar a expressão da ANXA1 e sua correlação com o receptor FPR2 em astrocitomas de diferentes graus de malignidade, pelo método de imuno-histoquímica. Esses estudos poderão contribuir para o melhor entendimento da biologia dos astrocitomas e na identificação de novos alvos prognósticos e/ou terapêuticos no combate aos tumores cerebrais.

### **3. OBJETIVOS**

O presente trabalho teve por objetivo verificar a expressão endógena da proteína ANXA1 e do receptor FPR2, por imuno-histoquímica, em astrocitomas de diferentes graus de classificação. No prosseguimento da investigação avaliaremos a correlação da ANXA1 com a expressão de metaloproteinases de matriz (MMP-2 e MMP-9) para o melhor entendimento das ações da proteína nos astrocitomas.

### **4. METODOLOGIA**

As análises foram realizadas em biópsias de astrocitomas graus 2 e 3 (n=5 cada) e GBM (n=10), provenientes dos arquivos do Serviço de Patologia das Faculdades Integradas Padre Albino (FIPA). Amostras de tecido cerebral normal foram usadas como controle. Após recuperação antigênica com tampão citrato pH 6,0 e bloqueio da atividade da peroxidase endógena, secções de 5µm das biópsias selecionadas foram incubadas com os anticorpos primários policlonais *rabbit* anti-ANXA1 e anti-FPR2 (1:3000). A seguir, incubadas com o anticorpo secundário biotinizado, imersas em complexo estreptavidina peroxidase conjugada, reveladas com o substrato diaminobenzidina e contracoradas com Hematoxilina. As lâminas foram analisadas no microscópio ZEISS – AXIOSKOP2 e as proteínas quantificadas com o *software* AXIOVISION. As análises estatísticas foram realizadas pela ANOVA e pós-teste de Bonferroni.

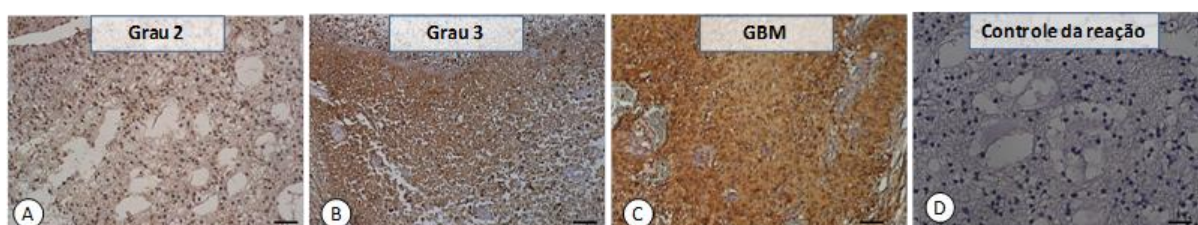
### **5. DESENVOLVIMENTO**

Inicialmente encaminhamos o projeto ao CEP-FIPA para avaliação e aprovação (registro no. 258.431). A seguir, com a autorização do responsável pelo serviço de

Patologia da FIPA, procedemos a buscas nos arquivos desse setor para a seleção de casos de astrocitomas de diferentes graus de classificação. Após separação dos blocos foram feitas as reações de imuno-histoquímica para detecção da ANXA1 e do FPR2 e as lâminas foram fotografadas para análises densitométricas. Para essas análises marcamos 20 pontos diferentes em 3 regiões dos tumores ou tecido cerebral normal, por lâmina. Os valores foram obtidos como unidades arbitrárias e as médias comparadas pela ANOVA seguida do pós-teste de Bonferroni. Valores de P menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significantes. No prosseguimento do trabalho analisaremos as expressões das MMP-2 e MMP-9, correlacionando suas expressões com a imunorreatividade da ANXA1 e do FPR2.

## 6. RESULTADOS PRELIMINARES

A expressão da ANXA1 é aumentada nos astrocitomas de todos os graus ( $p < 0,001$ ) comparada ao tecido cerebral normal. Entre os tumores ocorrem aumentos nos astrocitomas de graus 3 ( $p < 0,01$ ) e 4 ( $p < 0,001$ ) com relação ao grau 2. Nos GBM a expressão da ANXA1 é mais acentuada ( $p < 0,05$ ) comparada ao grau 3. A expressão do FPR é similar à encontrada para ANXA1, sendo exacerbada no GBM.



**Fig. 1** Análise imuno-histoquímica da expressão da ANXA1 em astrocitomas de grau 2 (A), 3 (B) e 4 ou glioblastoma (GBM) (C). Controle da reação (D). Cortes de 5  $\mu$ m. Contracoloração: hematoxilina. Barras: 10  $\mu$ m.

## 7. FONTES CONSULTADAS

Lim LHK, Pervaiz S. Annexin 1: the new face of an old molecule. *FASEB J.* 2007; 21:968-75.

Schittenhelm J, Trautmann K et al. Comparative analysis of annexin-1 in neuroepithelial tumors shows altered expression with the grade of malignancy but is not associated with survival. *Modern Pathology.* 2009; 22: 1600–11.