

AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA E PROTEICA DA PANEXINA 1 NO CARCINOMA HEPATOCELULAR EM CÃES

Anna Cláudia Carolina Shiramizu de Oliveira; Bruna Marcela Goes; Tereza Cristina da Silva; Bruno Cogliati

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo

anna.claudia.oliveira@usp.br

Objetivos

Analisar a expressão gênica e proteica da Panexina1 (Panx1) em amostras teciduais de carcinoma hepatocelular (CHC) canino.

Métodos e Procedimentos

Foram utilizadas 30 amostras de CHC canino pertencentes ao acervo do Laboratório de Patologia Morfológica e Molecular (LAPMOL) do Departamento de Patologia da FMVZ-USP, além de outros tecidos controles, como encéfalo de camundongo e fígado de cão normal, também armazenadas no acervo (CEUA nº 9204250520). As amostras teciduais foram submetidas a testes de padronização para as técnicas de imuno-histoquímica, imuno-fluorescência e Western Blot, nas quais se buscou identificar os devidos ajustes a serem realizados nos respectivos protocolos a fim de obter a melhor imunodeteção possível.

Resultados

Inicialmente, foram realizadas três tentativas de padronização para a técnica de imuno-histoquímica e, devido às indesejadas reações inespecíficas, optou-se por realizar a alteração para a técnica de imuno-fluorescência. Dentre as cinco tentativas de padronização, houve melhor visualização das proteínas de interesse quando se utilizou cortes de 8 µm de tecido congelado, sem recuperação antigênica e concentração de 1:100 do anticorpo anti-Panx1 (Novvus). Ainda assim, são necessários alguns

ajustes ao protocolo para prosseguir com o estudo. Para o Western Blot, utilizou-se o mesmo anticorpo para Panx1 empregado nas técnicas anteriormente mencionadas, porém, na concentração de 1:500. Os resultados não foram satisfatórios e novos testes serão realizados em breve com um novo anticorpo solicitado por importação direta.

Conclusões

Apesar da impossibilidade de realizar todos os experimentos previstos imposta pelo contexto pandêmico, e dada a importância e escassez de estudos sobre o CHC em cães, pretende-se concluir o projeto e contribuir, ainda que de forma preliminar, para que se possibilite um diagnóstico precoce e o desenvolvimento de protocolos terapêuticos mais eficazes, visto que resultados de pesquisas anteriores reforçam a tese de que exista correlação entre a superexpressão de Panx1 e a detecção precoce e estadiamento do CHC¹.

Referências Bibliográficas

- 1) SHI, G. et al. Panx1 promotes invasion-metastasis cascade in hepatocellular carcinoma. *Journal of Cancer*, v. 10, n. 23, p. 5681-5688, 2019.

EVALUATION OF GENE AND PROTEIN EXPRESSION OF PANNEXIN 1 IN HEPATOCELLULAR CARCINOMA IN DOGS

Anna Cláudia Carolina Shiramizu de Oliveira;

Bruna Marcela Goes; Tereza Cristina da Silva; Bruno Cogliati

University of São Paulo's Veterinary Medicine and Animal Science School

anna.claudia.oliveira@usp.br

Objectives

To evaluate the gene and protein expression of Pannexin-1 (Panx1) in tissue samples of canine hepatocellular carcinoma (HCC).

Materials and Methods

There were used thirty samples of canine HCC that belonged to the collection of the Morphological and Molecular Pathology Laboratory (LAPMOL) of the Department of Pathology at FMVZ-USP, in addition to other control tissues, such as mouse brain and healthy dog liver, also stored in the same collection (CEUA nº 9204250520). The tissue samples were submitted to standardization tests for immunohistochemistry, immunofluorescence and Western Blot techniques, in which were sought to identify the appropriate adjustments to be made in the respective protocols in order to obtain the best possible immunodetection.

Results

Initially, there were made three attempts to standardize the immunohistochemistry technique and, due to unwanted non-specific reactions, it was decided to make the change to the immunofluorescence technique. Among the five standardization attempts, there was better visualization of the proteins of interest when 8 µm sections of frozen tissue were used, without antigen retrieval and a 1:100 concentration of

anti-Panx1 antibody (Novvus). Still, there are some needed adjustments to the protocol to proceed with the study. For Western Blot, the same antibody to Panx1 applied in the previously mentioned techniques was used, however, at a concentration of 1:500. The results were unsatisfactory and new tests will be performed soon with a new antibody, which was requested by direct import.

Conclusions

Despite the impossibility of carrying out all the planned experiments imposed by the pandemic context and given the importance and scarcity of studies on HCC in dogs, it is intended to complete the project and contribute, even if in a preliminary way, to enable an early diagnosis and the development of more effective therapeutic protocols, as the results of previous research reinforce the thesis that there is a correlation between overexpression of Panx1 and the early detection and staging of HCC¹.

References

- 1) SHI, G. et al. Panx1 promotes invasion-metastasis cascade in hepatocellular carcinoma. *Journal of Cancer*, v. 10, n. 23, p. 5681-5688, 2019.