

Análise proteômica dos efeitos do veneno de *Bothrops jararaca* em fibroblastos murinos

Isabel de Souza Carvalho

Dra. Ana Luiza T. Silva, Dr. Alison F. A. Chaves

Dra. Solange M. T. Serrano

Instituto de Química/Universidade de São Paulo

Instituto Butantan

isabelcarvalho@usp.br

Objetivos

O gênero *Bothrops* é o principal causador de acidentes ofídicos com envenenamento no Brasil. A patogênese do envenenamento por *Bothrops* é caracterizada por efeitos locais e sistêmicos causados por venenos ricos em proteases. Os fibroblastos, componentes importantes do tecido conjuntivo, atuam na cicatrização de lesões inflamatórias e traumáticas, de modo que é essencial identificar neles as mudanças causadas pelas toxinas do veneno para entender as vias moleculares relacionadas a alterações patológicas. Assim, o objetivo geral deste projeto é caracterizar molecularmente os efeitos gerados em fibroblastos murinos (linhagem BALB/3T3 clone A31) após exposição ao veneno de *B. jararaca*, por análise proteômica baseada em espectrometria de massas.

Métodos e Procedimentos

4x10⁶ células (BALB/3T3 clone A31) foram incubadas com diferentes concentrações de veneno de *B. jararaca* (0.25, 0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 µg/mL) por 2 h. Para avaliar as mudanças na abundância de proteínas do secretoma

celular, estas foram submetidas a análises por espectrometria de massas por LC-MS/MS. Para este fim, amostras foram reduzidas e alquiladas e submetidas à digestão tripsínica usando o protocolo SP3. As análises por LC-MS/MS foram realizadas usando o sistema Vanquish Neo/ Orbitrap Exploris 480, em aquisição independente de dados (*data independent acquisition*, DIA). Para as análises bioinformáticas foi utilizado o software DIANN beta 1.8.2 e análises estatísticas foram realizadas em R com *scripts* específicos para este projeto.

Resultados

Um total de 2.062 proteínas únicas foram identificadas, e abundância diferencial de 0, 2, 101, 88 e 118 proteínas foi detectada no secretoma de células encubadas com, respectivamente, 0,25, 0,5, 1,0, 2,0 e 4,0 µg/mL de veneno. Proteínas relacionadas com adesão célula-célula, proteólise, sinalização celular e regulação de secreção de proteínas, por exemplo *CREB3 regulatory factor* and *COP9 signalosome complex subunit 6*, foram

observadas com abundância diminuída. Além disso, houve um aumento na abundância de proteínas relacionadas com resposta celular ao estímulo do fator de crescimento de fibroblastos, processo apoptótico, via de sinalização do receptor tirosina quinase ativado por colágeno e fosforilação oxidativa, por exemplo *latent-transforming growth factor beta-binding protein 2*, *cytochrome c oxidase subunit 6B1* and *EMILIN-1*.

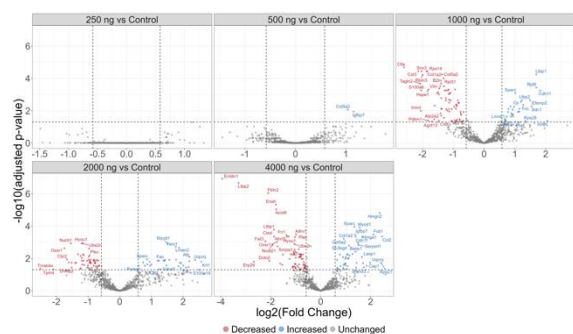


Figura 1: *Volcano plots* mostrando a abundância diferencial de proteínas do secretoma de células incubadas com veneno de *B. jararaca* nas concentrações 0,25, 0,5, 1,0, 2,0 and 4,0 µg/mL em comparação com as células controles.

Conclusões

Esses resultados preliminares revelam a resposta precoce dos fibroblastos às toxinas do veneno de *B. jararaca*, vista por alterações em proteínas de diferentes vias celulares, presentes no secretoma.

Agradecimentos

Suporte financeiro: FAPESP 2023/08327-0; 2013/07467-1.