XXX Encontro Anual de Iniciação Científica
VII Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior
eaic 2021

EFEITO DE FOSFOLIPASES-D LOXOSCÉLICAS NA DERME DE COELHOS OBSERVADOS PELA TÉCNICA HISTOLÓGICA DE COLORAÇÃO TRICÔMIO DE MALLORY

Mariana Luiza Claudino Mataruna (PROVIC/UEPG), Bruno Abel Resende Silva (Co Autor), Caroline Amanda da Silva (Co Autor), Pamela Renata Pontarolo (Co Autor), Ana Carolina Martins Wille (Orientador), e-mail: anacarolina.wille@yahoo.com.br

Universidade Estadual de Ponta Grossa/ Biologia Estrutural, Molecular e Genética.

Ciências Biológicas, Morfologia, Histologia.
Palavras-Chave: fosfolipases-D, tricrômico de mallory, dermonecrose.

Resumo

Os coelhos são usados para estudos de dermonecroses causadas pelo veneno de aranhas do gênero *Loxosceles* (aranhas marrons), por reproduzirem lesões semelhantes as dos humanos. Nestas lesões ocorre intensa resposta inflamatória, aumento de permeabilidade vascular, edema, degeneração da parede dos vasos sanguíneos entre outros. A maioria dos estudos histológicos de dermonecrose são realizados utilizando a técnica de coloração de H.E. Neste projeto foi realizado um estudo da derme corada pelo Tricômico de Mallory com a finalidade de melhor observar a arquitetura tissular que ocorre nos casos de envenenamento e comprometimento da pele e mostrou-se bastante útil para a diferenciação de estruturas e processos patológicos não visíveis por H.E.

Introdução

O loxoscelismo cutâneo é o quadro patológico que ocorre na pele após o envenenamento por aranhas do gênero *Loxosceles* (GONINO, 2019).
Para uma melhor observação e compreensão do loxoscelismo buscou-se observar a derme de coelhos tratados com fosfolipases-D recombinantes e coradas com Tricômico de Mallory, que cora fibras do tecido conjuntivo (colágeno) de maneira diferenciada, facilitando a distinção do tecido e uma melhor compreensão de sua reorganização após o envenenamento por estas aranhas.

Material e Métodos

Foram utilizadas peles de coelhos tratadas por 24 horas com 10µg de fosfolipases-D recombinantes de *Loxosceles. laeta e Loxosceles. gaucho* ativas (DT1) ou inativadas por mutações (H12AH47A em que as histidinas das posições 12 e 47 da região do sítio catalítico foram substituídas pelo aminoácido alanina; E32A/D34A, onde o ácido glutâmico (E) foi substituído pela alanina na posição 32 e D34A onde (D) ácido aspártico da posição 34 substituído pela alanina; Y228 o aminoácido aromático Tirosina (Y) foi substituído pela alanina na posição 228. As amostras de pele de coelho testadas foram emblocadas, cortadas em micrótomo na espessura de 5µm e posteriormente coradas com Tricômico de Mallory.

Conclusão ou Conclusões

Com a metodologia aplicada, foi possível analisar e fazer uma melhor diferenciação das estruturas da derme, bem como, compará-las na presença ou ausência de fosfolipase-D, verificando pontos de necrose, hemorragia (Figuras 1E e 1F e 2F e 2G) e da arquitetura tissular.

A técnica empregada mostrou-se bastante eficaz para o estudo do loxoscelismo cutâneo.

Resultados e Discussão

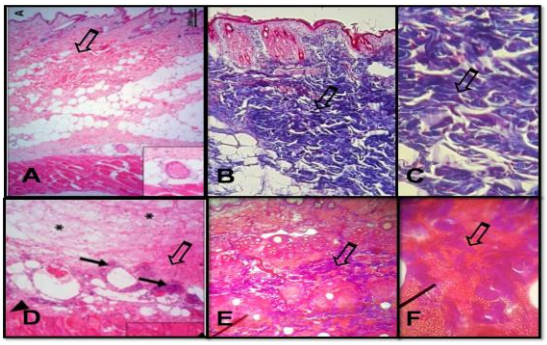


Figura 1. Análise histopatológica e comparativa entre as técnicas de H. E. e Tricômico de Mallory de peles de coelhos tratadas com fosfolipases-D de aranhas do gênero *Loxosceles*. (A, B e C) representam o controle (PBS), **(D)** representa pele de coelho tratada com fosfolipase-D recombinante de *Loxosceles gaucho*, **(E e F)** tratadas com fosfolipases-D de *Loxosceles laeta*. Flechas não preenchidas mostram as fibras colágenas. **(A e D)** Imagens adaptadas de da Silva *et al.*, 2021.

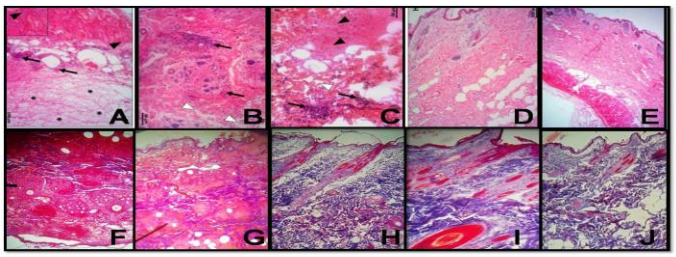


Figura 2: Quadro comparativo entre as técnicas de H.E e P.A.S para o estudo do loxoscelismo cutâneo. (A, B, C, D e E) representam peles de coelhos coradas em H.E. **(F, G, H, I e J)** representam a peles de coelhos coradas pela técnica do P.A.S. **(A e F)** Peles de coelhos tratados com fosfolipase-D recombinante de *Loxosceles gaucho*, **(B e G)** Peles de coelhos tratados com fosfolipase-D recombinante de *Loxosceles laeta*, **(C e H)** Peles de coelhos tratados com fosfolipase-D recombinante mutante de *Loxosceles laeta* (Y228A) **(D e I)** Peles de coelhos tratados com fosfolipase-D recombinante mutante de *Loxosceles gaucho* (H12A-H47A), **(E e J)** Peles de coelhos tratados com fosfolipase-D recombinante mutante de *Loxosceles gaucho* (E32A-D34A) . As imagens **(A, B, C, D e E)** foram adaptadas de da SILVA *et al.*, 2021.

Com as diferentes colorações, foi possível diferenciar as estruturas da derme, comparando entre elas a presença da fosfolipase-D, analisando pontos necróticos, hemorragia (Fig 1E e 1F e 2F e 2G)

Agradecimentos

A Fundação Araucária, e a UEPG/PIBIC por proporcionar o desenvolvimento deste trabalho. A orientadora Ana Carolina Martins Wille, pela atenção e paciência, pela dedicação profissional e pessoal.

BOHJANEN, K. Estrutura e funções da pele. In: SOUTOR, C.; HORDINSKY, M. Dermatologia Clínica. New York: Mc Graw Hill Education, 1 ed, 2015. p. 1-5.
GONINO, Gabriel Murilo Ribeiro; FISCHER, Marta Luciane. Diagnóstico do loxoscelismo no município de Ibirama, Santa Catarina, Brasil. Scientia Plena, v. 15, n. 1, 2019.
Da SILVA *et al.*, Brown Spiders' Phospholipases-D with Potential Therapeutic Applications: Functional Assessment of Mutant Isoforms Biomedicines, 2021.