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

AVALIAÇÃO DO EFEITO DAS FOSFOLIPASES-D RECOMBINANTES DO VENENO DE ARANHAS MARRONS SOBRE AS FIBRAS RETICULARES DA DERME.

Pamela Renata Oliveira Pontarolo (PROVIC/UEPG), Mariana Luiza Claudino Mataruna, Ana Carolina Martins Wille (Orientador), e-mail: anacarolina.wille@yahoo.com.br.

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

Ciências Biológicas (2.00.00.00-6), Morfologia (2.06.00.00-3), Histologia (2.06.03.00-2)

Palavras-Chave: loxoscelismo, fibras reticulares, aranha marrom

Resumo

Os venenos das aranhas do gênero *Loxosceles* são capazes de causar lesões de pele necrosantes. Entre as toxinas destes venenos, as fosfolipases-D são as principais responsáveis pelos danos observados. As fibras reticulares da derme são importantes para manter a arquitetura tecidual e possíveis danos causados pelas toxinas loxoscélicas nestas fibras pode comprometer a organização e funcionalidade da derme. Para avaliar os efeitos destas toxinas nestas fibras, amostras de pele de coelho foram tratadas com fosfolipases-D recombinantes de aranhas *Loxosceles laeta* e *Loxosceles gaucho.* As amostras analisadas foram coradas em P.A.S e mostraram ampla desorganização de fibras do sistema colágeno, entre as quais se encontram as fibras reticulares.

Introdução

Nas lesões dermonecróticas provenientes do envenenamento por aranhas do gênero *Loxosceles*, até o momento foram mostradas alterações na matriz extracelular envolvendo os colágenos (da SILVA *et al*., 2004), porém não existem estudos específicos sobre o colágeno III (fibras reticulares). Devido à escassez de estudos sobre o colágeno III, o objetivo deste subprojeto foi avaliar os efeitos de fosfolipases-D presentes nos venenos loxoscélicos sobre este tipo de fibra.

Material e Métodos

Foram obtidas amostras de pele de coelho tratadas com fosfolipases-D recombinantes de *Loxosceles laeta* e *Loxosceles gaucho* na concentração de 10µg/mL por 24 horas. Para o controle negativo as amostras foram injetadas com PBS. Para a obtenção dos resultados foram feitas lâminas histológicas das amostras emblocadas em parafina e cortadas em micrótomo Leica 818, os cortes foram feitos a 10µm e 20µm. A coloração foi feita pela técnica de Ácido Periódico de Schiff (P.A.S) por 30 minutos. Para a análise estatística foram observadas 5 amostras de cada variável e os resultados obtidos de forma semi-quantitativa foram avaliados por escores de 0 a 3, sendo 0 = ausência de desorganização das fibras reticulares e 3 = intensa desorganização das fibras reticulares utilizando o modelo não paramétrico de Kruskal-Wallis. Para diferenças significativas entre as variáveis a comparação múltipla foi realizada com o teste de Dunn. O nível de significância adotado foi de 5%, ou seja, quando $p<0,05$ as diferenças foram consideradas significativas.

Resultados e Discussão

Pela técnica utilizada, no tratamento com 10µg/mL por 24 horas com a fosfolipase-D recombinante *de Loxosceles laeta* foi possível observar uma desestruturação das fibras conjuntivas (figura 1D, 1E e 1F) especialmente nas regiões equivalentes as áreas onde são encontradas as fibras reticulares e infiltrados com células inflamatórias quando comparados ao controle (Figura 1A, 1B e 1C).

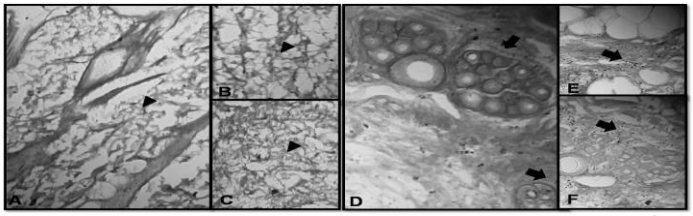


Figura 1. Pele de coelho tratada com a toxina dermonecrótica recombinante (fosfolipase D) de *Loxosceles laeta*. (A, B e C) Representam o controle (PBS). Cabeças de seta (▲) mostram as fibras organizadas na arquitetura normal do tecido. **(D, E e F)** representam o tecido tratado com a toxina dermonecrótica recombinante de *Loxosceles laeta* na concentração de 10µg/mL. Flechas indicam as fibras desorganizadas e a presença de células inflamatórias. **(A, B, C, D e F)** Aumento de 40X, **(E)** aumento de 400X.

O mesmo achado pôde ser observado em amostras de pele de coelho tratadas com a fosfolipase-D recombinante de *Loxosceles gaucho* nas mesmas concentrações e tempos testados (Figura 2C).



Figura 2: Pele de coelho tratada com a toxina dermonecrótica recombinante (fosfolipase-D) de *Loxosceles gaucho*. (A e B) Representam o controle (PBS). Cabeças de seta (▲) mostram as fibras organizadas na arquitetura normal do tecido. **(C)** Representa o tecido tratado com a toxina dermonecrótica recombinante de *Loxosceles gaucho* na concentração de 10µg/mL por 24 horas. Flechas indicam as fibras desorganizadas e a presença de células inflamatórias. **(A)** Aumento de 40X, **(B)** Aumento de 400X, **(C)** aumento de 100X.

Em um escore de 0 a 3, sendo 0 = ausência de desorganização das fibras reticulares e 3 = intensa desorganização das fibras reticulares, todas as amostras tratadas com fosfolipases-D recombinantes apresentaram um escore 3 apresentando resultado bastante significativo quando comparado ao controle cujo escore foi 0 para todas as amostras. Os resultados estão de acordo com GREMSKI *et al*., 2020 que citam o envolvimento das fosfolipases-D loxoscélicas nas alterações observadas na pele durante o envenenamento.

Conclusão ou Conclusões

Os resultados estão de acordo com o esperado sendo observado em todas as amostras testadas e toxinas analisadas a desorganização das fibras reticulares e a presença de células inflamatórias revelando uma diferença estatística significativa.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e a UEPG/PROVIC por proporcionar o desenvolvimento deste trabalho. A orientadora Ana Carolina Martins Wille por todo conhecimento transmitido.

DA SILVA P.H., DA SILVEIRA R.B., HELENA APPEL M., MANGILI O.C., GREMSKI W., VEIGA S.S. Brown spiders and loxoscelism. **Toxicon.**2004; 44:693–709.

GREMSKI, L.H.; da JUSTA, H.C.; da SILVA, T.P.; POLLI, N.L.C.; ANTUNES, B.C.; WILLE, A.C.M.; SENFF-RIBEIRO, A.; ARNI, R.K.; VEIGA, S.S. Forty Years of the Description of Brown Spider Venom Phospholipases-D. **Toxins**, v. *12*, n. 3, p. 164-192, 2020.

Universidade Estadual de Ponta Grossa
ISSN 1676-0093
propesp PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO