

Título: Análise Proteômica e Metabólica de Células Polimorfonucleares de Sangue Periférico de Pacientes com Sepses

Autores: Mônica Bragança Sousa; Giuseppe G. F. Leite; Jackeline Yuka Hayashi; Flávio G. R. de Freitas, Letícia S. Vendrame, Alexandre Keiji Tashima; Reinaldo Salomão.

Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo - SP - Brasil.

Resumo:

Introdução: A resposta imune na sepse é mediada por leucócitos, sendo os neutrófilos a linha de frente na defesa do organismo. Na resposta celular o metabolismo energético suporta as funções e, nos neutrófilos, sua principal via é a glicolítica. Comparando células polimorfonucleares de pacientes sépticos (PS), com voluntários sadios (HV) avaliamos as alterações metabólicas na doença.

Objetivos: Caracterizar o perfil proteômico de neutrófilos de pacientes com sepse, com foco na atividade metabólica celular, e analisar a contribuição das diferentes vias metabólicas na modulação funcional.

Métodos: Para a proteômica selecionamos 45 pacientes (21 – óbito e 24 – alta hospitalar) admitidos na UTI e 10 voluntários sadios como controles. As proteínas foram extraídas, digeridas e purificadas com o kit EasyPep, rotuladas com TMT e analisadas em espectrômetro de massas Orbitrap Fusion Lumos. Os dados foram processados no Proteome Discoverer, analisados no software R e o enriquecimento de vias realizado com o Reactome. Para a análise metabólica em tempo real foram dosados o consumo de oxigênio (OCR) e a acidificação extracelular (ECAR) no Seahorse em 6 pacientes e 6 controles.

Resultados: De 813 proteínas presentes em mais de 50% das amostras, 309 foram identificadas como diferencialmente abundantes (DAPs), sendo 258 aumentadas e 51 diminuídas nos pacientes com sepse quando comparados com controles. As principais alterações encontradas no enriquecimento de vias estão relacionadas com desregulação metabólica, incluindo as vias de respiração aeróbica e metabolismo de aminoácidos e glicose; além disso também estão alteradas as vias de ativação imune inata, degranulação de neutrófilos, sinalização de citocinas e homeostase. Funcionalmente, tanto a via oxidativa como a via glicolítica estão mais ativadas nos pacientes, prevalecendo o perfil glicolítico.

Conclusão: As análises revelam alterações do metabolismo nos pacientes com sepse, tanto nas proteínas relacionadas às vias metabólicas, como na avaliação funcional de OCR e ECAR. A modulação observada nas vias relacionadas a resposta imune e a atividade metabólica dos neutrófilos demonstra que a sepse desregula a produção energética que suporta a função dessas células.