

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS E
PARASITÁRIAS**

AMANDA RIBEIRO DOS SANTOS

**FIBROGÊNESE PULMONAR NA PARACOCCIDIOIDOMICOSE:
COMPARAÇÃO DO PERFIL PROTÊOMICO DE DIFERENTES MODELOS
EXPERIMENTAIS DE FIBROSES PULMONAR E HEPÁTICA**

**CAMPO GRANDE
2022**

AMANDA RIBEIRO DOS SANTOS

**FIBROGÊNESE PULMONAR NA PARACOCCIDIOIDOMICOSE:
COMPARAÇÃO DO PERFIL PROTÊOMICO DE DIFERENTES MODELOS
EXPERIMENTAIS DE FIBROSES PULMONAR E HEPÁTICA**

Tese apresentada como exigência parcial à
obtenção do título de Doutor em Doenças
Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de
Medicina da Universidade Federal de Mato
Grosso do Sul, sob orientação do Prof. Dr.
James Venturini

**CAMPO GRANDE
2022**

DEDICATÓRIA

*Dedico a todas as pessoas acometidas pelas doenças negligenciadas,
principalmente, aos pacientes com sequela pulmonar decorrente da
Paracoccidioidomicose.*

EPÍGRAFE

Para ser grande, sê inteiro:

nada

Teu exagera ou exclui.

Sê todo em cada coisa. Põe quanto és

No mínimo que fazes.

Assim cada lago a lua toda

Brilha, porque alta vive.

Fernando Pessoa

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus no qual sempre cuida de mim, guia meus passos e plantou em meu coração o sonho de ser pesquisadora. Desde então me mostra o caminho e foi abrindo todas as portas para que eu chegasse até aqui. E que mesmo nos meus momentos de maior dúvida e insegurança ele nunca me abandona.

Agradeço meu filho Arthur Ribeiro dos Santos Alpha Corsi que desde seu nascimento me acompanha nessa jornada que é a formação para ser um pesquisador. Ele está comigo desde o início da minha iniciação científica, presente em cada momento importante como graduação e defesa de mestrado. Hoje, com 10 anos, já é um menino incrível e está me ajudando a escrever esses agradecimentos exigindo que seja agradecido em primeiro (hahahaha..). Arthur, obrigada por abrir mão da minha presença em tantos momentos em que precisei estar longe para me dedicar a minha formação. Obrigada por, mais uma vez, abrir mão da sua estabilidade, escola, amigos e família por perto, para me acompanhar na caminhada em direção aos meus sonhos. Obrigada por existir, por me ensinar todos os dias a ser uma pessoa melhor, por ser um termômetro de medida me ajudando a encontrar o equilíbrio entre o trabalho e a família.

Meu segundo agradecimento vai para aqueles à quem eu devo não só a inspiração para minha profissão, mas também a vida, o amor incondicional, o cuidado e o apoio sem medida: Thaís Martins Ribeiro e Josué Shalar dos Santos, minha eterna gratidão, vocês dois são meus primeiros amores. Aproveito também para agradecer a Ana Carolina Ribeiro dos Santos na qual eu divido a vida e seus momentos de alegrias, tristezas, dificuldades e aventuras desde os meus 6 anos, quando Deus me presenteou com a melhor irmã desse mundo! Ana, palavras não são o suficiente para descrever o quão fundamental você é em minha vida e o quanto suas palavras me ajudam a levantar e continuar caminhando quando está muito difícil. Com certeza você tem um papel fundamental nessa minha conquista.

Agradeço também o Danilo de Freitas Alpha Corsi que há tempos é meu melhor amigo e hoje meu companheiro de vida, por toda nossa história, pela parceira e por dividir comigo

a missão de ser pais do Arthur, uma das missões mais maravilhosa e difícil dessa vida. Obrigada por toda ajuda durante esses quatro anos de doutorado, principalmente nessas últimas semanas em que você está literalmente participando da finalização desse trabalho com as edições e figuras. Com certeza, o caminho seria muito mais árduo sem você ao meu lado. Muito obrigada, te amo!

Agradeço toda minha família que o que tem de grande tem de maravilhosa e que são minha fonte de amor, força, cuidado, proteção, pertencimento e diversão. Na minha família tenho a sorte de ter as minhas melhores amigas. Muito obrigada minha tia amada e querida Lilian Martins Ribeiro por todo o cuidado, amor e carinho desde criança, por nossa amizade, apoio e por literalmente me ajudar nessa caminhada me ouvindo apresentar meus trabalhos e me ajudando a cuidar do nosso “tutuzinho” durante minhas viagens e período de intercâmbio. O mesmo vale para a Letícia e Giovana Ribeiro, obrigada por toda amizade, amor, carinho, preocupação dedicados a mim, amo vocês de mais! Agradeço meu Tio Ricardo Martins Ribeiro por ser divertido e presente nos momentos em que mais preciso da sua ajuda. Obrigada a minha madrastra Marcia e meus irmãos Felipe e Luzia por toda ajuda, carinho e apoio.

Agradeço a minha família que o Danilo e o Arthur me trouxeram, aos meus sogros Ivaneide de Freitas Leite e Rubens Alpha Corsi pelo apoio incondicional por me acolherem como uma filha, por me estimularem a seguir meus sonhos e por me ajudarem na realização de cada etapa deles. Obrigada cunhada, tias, tios primos, Gabriela, Edinha, Vera, Guilherme e Raimundo, Zeneide e Ricardo, Cleide, Tiago e Gabi, Marcelo e Gili por me receberam tão bem nessa família, serei eternamente grata a tudo o que fizeram por mim, por todo o amor, carinho e momentos de diversão.

A família é muito importante para segurança, força e suporte para seguir nossos sonhos mas, se não fosse a Maria Sueli Parreira e o James Venturini me abrirem as portas do do Laboratório de Imunopatologia Experimental (LIPE), onde realizei minha iniciação científica eu, com certeza, não estaria aqui hoje. Então é com muito gratidão no coração que agradeço ao meu orientador James Venturini por tudo! James, obrigada por confiar em mim e me dar a oportunidade de trabalhar e aprender tanto com você. Obrigada pela

amizade, pelo carinho e por todos esses anos juntos. Obrigada por todas as pessoas que você me apresentou e que foram abrindo meu caminho no mundo científico. Obrigada pelas dicas, pela ajuda, por lutar comigo por meus sonhos e por me dar suporte para alcançá-los. Hoje, após 10 anos de formação, eu tenho orgulho da pesquisadora que me tornei, e se tem alguém a quem eu devo a maior parte disso é você! Hoje nossa relação de orientada e orientador se encerram, mas não nossa parceria na pesquisa nem nossa amizade. Espero que tenhamos ainda muita história pela frente.

Agradeço aos meus amigos queridos do LIPE, que me inspiraram e me ensinaram tantas coisas não apenas sobre imunologia, microbiologia, patologia, docência e técnicas laboratoriais, mas também sobre trabalho em grupo, amizade, parceria, colaboração, humildade, que foram a base para a pesquisadora que me tornei. Muito obrigada Maria Sueli, Thais Fraga, Camila Marchetti, Luisa Mimura, Nara Lígia, Débora Almeida, Angela Finatto, Barbara Amorim, Karoline Reis, Laysla Leite, Anne Capra e tantos outros que passaram pelo LIPE. Muito obrigada! Vocês que estão listados aqui, se tornaram minhas amigas de vida e com certeza continuam a deixar minha essa caminhada mais leve e divertida.

Agradeço aos amigos e colegas da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS) que me receberam tão bem quando me mudei para Campo Grande para iniciar o doutorado. Muito obrigada as Professoras Ana Paula Costa Marques e Maria Carolina Silva Marques, Sônia Andrade e Sandra Leone e ao grupo de alunos Dario Correia, Ariane, Bárbara, Carlos, Matheus Souza, e etc, por me acolherem na Microbiologia, por tudo o que me ensinaram, pela oportunidade de ser Professora Voluntária de Microbiologia e ter participado dos projetos que de extensão que tanto amo como o “Trem do Pantanal” e “Pint of Science”. Eu não vou conseguir descrever aqui o quanto sou grata pela nossa amizade, pelos nossos almoços, aventuras e extravagâncias. Sempre lembrarei de vocês e desse período da minha vida em Campo Grande com muito carinho e saudades.

Vocês são incríveis!

Agradeço aos amigos e colegas do Laboratório de Doenças Infecciosas e Parasitárias (LabDIP), assim como a FAMED e a PPGDIP que me receberam para realizar o

doutorado. Obrigada Eliana Alvarenga, Karine Mattos, Camila Ayoama, Sarah Rosa e Camila Montalbano e todos os colegas da PPGDIP, pela amizade, companhia e colaboração durante os anos de disciplina, ambulatório e rotinas de exame. Obrigada a Professora Anamaria Mello Paniago que é uma inspiração para mim, que é uma profissional, pessoa e professora maravilhosa a qual admiro e tenho muito carinho.

Professora Anamaria, obrigada por me receber no ambulatório de PCM, pela oportunidade de ver, conversar e aprender mais sobre os pacientes acometidos pelas doenças infecciosas, principalmente a PCM. Obrigada pela sua humanidade, carinho, amor, dedicação e olhar dócil para com seus pacientes e alunos. Nunca me esquecerei de você e de tudo que me ensinou.

Obrigada a toda equipe da PPGDIP, principalmente ao Eduardo que, como secretário, é sempre tão prontamente disponível para nos ajudar e tirar dúvidas. Eduardo, muito obrigada pelo seu trabalho que é tão importante para os alunos da PPGDIP e também por toda atenção e trabalho dobrado que te dei durante a fase de preparação para o doutorado sanduíche. Obrigada a Edinéia Ribeiro dos Santos (Néia) e o Prof. Dr. Júlio Croda da equipe da CAPES-Print-UFMS por todo o trabalho e colaboração para a realização do meu doutorado-sanduíche. Agradeço ainda a Professora Marcia Melhem por todo o apoio e parceria para com a PPGDIP e ao LabDIP. Professora Marcia, muito obrigada pela sua amizade, parceria, por me acolher no seu grupo, me ensinando tantas coisas sobre micologia e por abrir as portas para mim no “Mycotic Diseases Branch/CDC” onde realizei meu doutorado sanduíche. Obrigada também a Dr. Paola Capellano pela parceria, por me apresentar e me receber no Laboratório Fleury em São Paulo. Obrigada ainda a Lisandra do LACEN/MS, que assim como a professora Marcia Melhem e a Dr. Paola Capelano é nossa colaboradora no meu projeto de doutorado sanduíche. Agradeço ainda os pesquisadores do Mycotic Diseases Branch/CDC que me receberam como pesquisadora convidada no CDC, Atlanta-USA, principalmente a minha supervisora Nancy Chow e as minhas colegas do grupo de bioinformática a Ujwal Bagal, Lindsay Parnel, Elizabeth Misas e Malavika por tudo o que me ensinaram, pela paciência e por me receberem com tanto carinho.

Obrigada aos meus amigos queridos que fiz aqui em Atlanta, USA. Obrigada a Sabrina Weiss e o Henrique Gatti, que também foi aluna da PPGDIP e me ajudou em todos os momentos do doutorado sanduíche desde a preparação dos documentos, até me receber aqui em Atlanta. Obrigada aos queridos Inna, Tais, Manpreet, Federica, Eduardo, Kishor, Karin, Ana, Rusen, Fernando, Mateus, Grace, Amira, Viviane, Pradeep e todos os amigos que fiz da Villa International Atlanta-USA. A Villa foi minha casa e vocês, minha família durante esses últimos seis meses longe do meu país, família e amigos. O apoio, amizade e carinho de vocês foram fundamentais para eu trilhar esse tão sonhado e desejado intercâmbio, de forma mais segura e feliz. Obrigada por todos os momentos risos, choros, danças, festas, vergonhas, saudades e muita diversão compartilhados. Vocês estarão pra sempre em meu coração. Agradeço também aos meus amigos do “grupo latino” do MDB/CDC, Elizabeth Misas, Jorge Mario, Narda Medina e Louisa pelo apoio e desejos de boa sorte nessa parte final da defesa, pelos nossos almoços, parceria e pelas aulas de espanhol (hehehehe).

Finalmente agradeço aos professores Dr. Rinaldo (Tietê) Pôncio Mendes, Dr. Giovana Cristina Giannesi e Dr. Clayton Luiz Borges por terem participado da minha banca de qualificação e terem colaborado para que este trabalho fosse apresentado da melhor forma possível. Agradeço ainda a Prof^a. Titular Marília Afonso Rabelo Buzalaf e todos os técnicos e alunos do Departamento de Bioquímica da USP-Bauru (SP) onde realizamos as análises proteômicas deste trabalho, em especial a Aline Dionízio que me ensinou as técnicas de bioinformáticas utilizadas nesse estudo.

RESUMO

Introdução. A paracoccidioidomicose (PCM) é uma micose sistêmica causada por fungos do gênero *Paracoccidioides*. É uma doença endêmica na América Latina, sendo a primeira causa de morte entre todas as micoses sistêmicas no Brasil. Essa doença afeta principalmente os trabalhadores rurais e induz sequelas graves, incluindo a fibrose pulmonar (FP) e o enfisema pulmonar. De modo geral, a fibrogênese é caracterizada pela hiperplasia de miofibroblastos e intensa deposição de colágeno no parênquima e em vasos sanguíneos. Com o tempo, esse processo induz mudanças na arquitetura do órgão afetado induzindo o declínio da função. Em geral, o conhecimento dos mecanismos envolvidos na fibrogênese é baseado em estudos, por exemplo, de fibroses hepática (FH) e pulmonares não infecciosas, como a fibrose pulmonar idiopática (FPI). Na PCM, os mecanismos envolvidos na FP ainda permanecem pouco esclarecidos. **Objetivo.** Identificar vias de sinalizações relevantes para a FP na PCM experimental através da comparação do proteoma pulmonar de camundongos infectados com *P. brasiliensis* e camundongos com FP induzida por bleomicina (BLM), bem como proteínas-alvo relevantes que sejam comuns nos modelos de FP (PCM e BLM) e no modelo de FH induzida por tetracloreto de carbono (CCl₄). **Metodologia.** O modelo de FP-PCM foi constituído por camundongos da linhagem BALB/c, adultos, machos, inoculados com leveduras de *P. brasiliensis* (isolado Pb326) pela via intra-traqueal e foram avaliados após oito semanas. O modelo de FP-BLM foi constituído por camundongos BALB/c, adultos, machos, nos quais foram administradas três doses de bleomicina pela via intraperitoneal e foram avaliados após duas semanas da última dose. O modelo de FH foi constituído por camundongos da linhagem C57Bl/6, adultos, machos, nos quais foram administradas 12 doses de CCl₄, intraperitonealmente, duas vezes por semana durante seis semanas. Os grupos controles foram constituídos por camundongos BALB/c e C57Bl/6 submetidos às mesmas condições de inóculos, utilizando-se solução salina estéril. Pulmões e fígado foram coletados de acordo com cada modelo e foram submetidos a análise histopatológica e recuperação de fungos viáveis para o modelo FP-PCM. A análise proteômica foi realizada utilizando nano-cromatografia líquida acoplada ao espectrofotômetro de massas de ionização por electrospray (nano-LC-ESI-MS / MS). O software Protein Lynx Global Service (PLGS) foi usado para identificar a diferença na expressão das proteínas identificadas, onde $p < 0.05$ e $1 - p > 0.95$, foram usados para a determinação de proteínas sub- ou super expressas respectivamente. Análises de bioinformática foram realizadas para a identificação das vias significativamente enriquecidas nas quais as proteínas com expressão similar ou diferentes entre os grupos participavam. Para esta análise, o banco de dados de vias Reactome foi utilizado através do Cluego v2.0.7 + Clupedia v1.0.8 plug-in no software Cytoscape. **Resultados e discussão.** A análise proteômica revelou 919 proteínas diferencialmente expressas entre os pulmões do modelo FP-PCM e o pulmão saudável do grupo controle. Foi observado, ainda, que a infecção por *P. brasiliensis* induziu super expressão em vias relacionadas com sinalizações pró-fibróticas, incluindo: resposta neutrofílica, resposta celular ao estresse, resposta pró-fibrótica mediada pela sinalização do receptor TGF- β na transição celular de epitelial para mesenquimatosa, fase de atenuação e fenótipo secretor associado à senescência, degranulação plaquetária e sinalização PI3K. Foram identificadas 355 proteínas em comum com os três modelos de fibroses avaliados. A análise do padrão de expressão dessas proteínas através de *heatmap* revelou que a fibrogênese observada na PCM experimental apresentou maior similaridade entre as proteínas diferencialmente expressas pelo modelo de FH induzida por CCl₄. As proteínas Rho GTPases, HSP-90 e vimentina estavam super expressas nos tecidos fibróticos desses dois grupos. **Conclusão.** Nossos achados contribuem para identificar mecanismos moleculares mais específicos envolvidos na fibrogênese da PCM, bem como identificar alvos proteicos para possíveis drogas anti-fibróticas na PCM.

Palavras-chave: *Paracoccidioides brasiliensis*, fibrose pulmonar, enfisema, proteômica, fibrose hepática, paracoccidioidomicose.

ABSTRACT

Introduction. Paracoccidioidomycosis (PCM) is a systemic mycosis caused by fungi of the genus *Paracoccidioides*. It is an endemic disease in Latin America, being the leading cause of death among all systemic mycoses in Brazil. This disease mainly affects rural workers and induces severe sequelae, including pulmonary fibrosis (PF) and pulmonary emphysema. In general, fibrogenesis is characterized by myofibroblast hyperplasia and intense collagen deposition in the parenchyma and blood vessels. Over time, this process induces changes in the architecture of the affected organ, inducing a decline in function. In general, knowledge of the mechanisms involved in fibrogenesis is based on studies, for example, of non-infectious hepatic and pulmonary fibrosis, such as idiopathic pulmonary fibrosis (IPF). In PCM, the mechanisms involved in PF remain unclear. **Objective.** Identify signaling pathways relevant to FP in experimental PCM by comparing the pulmonary proteome of mice infected with *P. brasiliensis* and mice with bleomycin-induced FP (BLM), as well as relevant target proteins that are common in FP models (PCM and BLM) and in the model of FH induced by carbon tetrachloride (CCl₄). **Material and Methods.** The FP-PCM model consisted of adult male BALB/c mice inoculated with *P. brasiliensis* yeasts (Pb326 isolate) by the intratracheal route and evaluated after eight weeks. The FP-BLM model consisted of adult male BALB/c mice, which were administered three doses of bleomycin intraperitoneally and were evaluated two weeks after the last dose. The FH model consisted of adult male C57Bl/6 mice in which 12 doses of CCl₄ were administered intraperitoneally twice a week for six weeks. Control groups consisted of BALB/c and C57Bl/6 mice submitted to the same inoculum conditions, using sterile saline solution. Lungs and liver were collected according to each model and submitted to histopathological analysis and recovery of viable fungi for the FP-PCM model. Proteomic analysis was performed using liquid nanochromatography coupled to an electrospray ionization mass spectrophotometer (nano-LC-ESI-MS/MS). The Protein Lynx Global Service (PLGS) software was used to identify the difference in the expression of the identified proteins, where $p < 0.05$ and $1 - p > 0.95$, were used for the determination of under- or over expressed proteins respectively. Bioinformatics analyzes were performed to identify the significantly enriched pathways in which proteins with similar or different expression between groups participated. For this analysis, the Reactome pathway database was used through the Cluego v2.0.7 + Clupedia v1.0.8 plug-in in the Cytoscape software. **Results and discussion.** Proteomic analysis revealed 919 proteins differentially expressed between the lungs of the FP-PCM model and the healthy lung of the control group. It was also observed that *P. brasiliensis* infection induced overexpression in pathways related to pro-fibrotic signaling, including: neutrophilic response, cellular response to stress, pro-fibrotic response mediated by TGF- β receptor signaling in cell transition from epithelial to mesenchymal, attenuation phase and secretory phenotype associated with senescence, platelet degranulation and PI3K signaling. A total of 355 proteins were identified in common with the three fibrosis models evaluated. The analysis of the expression pattern of these proteins through heatmap revealed that the fibrogenesis observed in the experimental PCM showed greater similarity between the proteins differentially expressed by the model of FH induced by CCl₄. Rho GTPases, HSP-90 and vimentin proteins were overexpressed in the fibrotic tissues of these two groups. **Conclusion.** Our findings contribute to identify more specific molecular mechanisms involved in PCM fibrogenesis, as well as to identify protein targets for possible anti-fibrotic drugs in PCM.

Keywords: *Paracoccidioides brasiliensis*, pulmonary fibrosis, emphysema, proteomics, hepatic fibrosis, paracoccidioidomycosis.

LISTA DE ABREVIATURAS

Gp43: glicoproteína de 43kDa
ACTN3: alfa-actinina-3
AEC: células epiteliais alveolares
AKT: proteína quinase B
APC: células apresentadoras de antígenos
AST: aspartato aminotransferase
BLM: bleomicina
BMSCs: células mesenquimais derivadas da medula óssea
CCL: ligante de quimiocina (C-C *motif*)
CCl₄: tetracloreto de carbono
CMX: Cotrimoxazol
CTRL: controle
DNA: ácido desoxirribonucleico.
DTT: ditioneítrito
ECM: matriz extracelular
EMT: transição epitelial para mesenquimatosa
ERK: quinase regulada por sinal extracelular
Erp57: proteína 57 do retículo endoplasmático
FA: forma aguda/sub-aguda
FC: forma crônica
FH: fibrose hepática
FP: fibrose pulmonar
FPI: fibrose pulmonar idiopática
FR: forma residual
HSC: células estreladas hepáticas
HSP-90: proteína de choque térmico 90
ID: números de acesso
IFN: interferon- γ
IL: interleucina
ITC: itraconazol

MAPK: proteínas quinases ativadoras por mitógenos
MHC: complexo de histocompatibilidade maior
MRTF: fator de transcrição-A relacionado à miocardina
mTOR: alvo mamífero da rapamicina
PAK1: proteína quinase serina/treonina
PCM: paracoccidioidomicose
PI3K: fosfoinosítídeo 3-quinase
PIP2: fosfatidilinositol 4,5-bifosfato
PIP3: fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato
PLGS: ProteinLynx Global Server
P53: proteína tumoral 53
Rheb: RAS homólogo enriquecido no cérebro
RHO GTPases: pequenas proteínas G sinalizadoras
SBS: salina tamponada estéril
SRF : fator de resposta ao soro
TGF- β 1: fator de crescimento transformador beta-1
Th1: linfócitos do tipo T *helper* 1
TNF- α : fator de necrose tumoral
UFC: unidade formadora de colônia
UNESP: Universidade Estadual Paulista
 α -SMA: actina α do músculo liso

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Processo transição epitelial para mesenquimatoso (EMT).....	18
FIGURA 2 - A fibrose pulmonar é consequência da desregulação do processo de reparo tecidual.....	23
FIGURA 3 - Mecanismos celulares e moleculares envolvidos na fibrose hepática.....	32
FIGURA 4 - Análise histopatológica dos tecidos fibróticos de camundongos dos modelos experimentais de fibrose pulmonar induzida por <i>P. brasiliensis</i> , bleomicina e fibrose hepática induzida por CCl ₄	44
FIGURA 5 - Perfil do proteoma pulmonar de camundongos infectados com <i>P. brasiliensis</i> comparado com modelo experimental de fibrose hepática (FH) e com o modelo de fibrose pulmonar induzida por bleomicina.....	60
FIGURA 6 - Perfil do proteoma de pulmão de camundongos infectados com <i>P. brasiliensis</i> (FP-PCM) comparado ao proteoma pulmonar de modelo experimental de fibrose induzida por bleomicina (FP-BLM) e ao proteoma hepático de modelo experimental de fibrose hepática induzida por tetracloreto de carbono (CCl ₄).....	67
FIGURA 7 - <i>Heatmap</i> do padrão de expressão das proteínas em cada grupo experimental (pulmões e fígados) em comparação com seus respectivos controles (pulmões e fígado saudáveis).....	68
FIGURA 8 - Vias dos processos envolvidos com a fibrogênese causada pela infecção por <i>P. brasiliensis</i> em modelo experimental murino.....	85

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Proteínas com expressões significativamente alteradas em pulmões de camundongos BALB/c após oito semanas de infecção por <i>P. brasiliensis</i> (grupo FP-PCM) em relação a pulmões saudáveis (grupo controle).....	44
TABELA 2 - Análise de enriquecimento de vias das proteínas com expressão significativamente alteradas em cada grupo experimental (pulmões e fígados fibróticos) em comparação com seus respectivos controles (pulmões e fígado saudáveis).....	53
TABELA 3 - Proteínas que apresentaram expressão similar em pulmões de camundongos infectados com <i>P. brasiliensis</i> (grupo FP-PCM) e fígado de camundongos com fibrose hepática (grupo FH).....	61
TABELA 4 - Proteínas que apresentaram expressão similar em pulmões de camundongos infectados com <i>P. brasiliensis</i> (grupo FP-PCM) e camundongos com fibrose pulmonar induzida por bleomicina (grupo FP-BLM).....	64
TABELA 5 - Estratégias selecionadas para o tratamento da fibrose pulmonar (FP) da paracoccidiodomicose (PCM) de acordo com proteínas e vias chaves.....	79

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA	6
1.1. Paracoccidiodomicose: agentes etiológicos, epidemiologia, aspectos clínicos e controle da doença.	6
1.2. A forma residual (FR) da PCM.	9
1.3. A Fisiopatologia da fibrogênese na PCM.....	13
1.4. Fibrose pulmonar em modelo experimental murino de paracoccidiodomicose.....	20
1.5. Modelo experimental de fibrose pulmonar (FP) induzida por bleomicina.....	21
1.6. Fibrose hepática (FH) induzida por tetracloreto de carbono (CCl ₄).....	28
2. RACIONAL DA PESQUISA.....	33
3. OBJETIVOS	35
4.1. Geral	35
4.2. Específicos.....	35
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	36
5. RESULTADOS	40
5.1. Caracterização dos modelos experimentais.....	40
5.2 Perfil global do proteoma pulmonar e hepático de camundongos dos grupo FP-PCM, FP-BLM e FH.....	43
5.3 Perfil do proteoma pulmonar de camundongos infectados com <i>P. brasiliensis</i> comparado aos camundongos dos grupo FP-BLM e FH.....	58
5.4 Perfil proteômico comum entre pulmões de camundongos infectados com <i>P. brasiliensis</i> ou com fibrose induzida por bleomicina e fígado de camundongos com fibrose induzida por tetracloreto de carbono.	66
6. DISCUSSÃO	69
7. CONCLUSÕES	87
8. REFERÊNCIAS	88
APÊNDICE I.....	101
APÊNDICE II.....	102
APÊNDICE III.....	132

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

1.1. Paracoccidioidomicose: agentes etiológicos, epidemiologia, aspectos clínicos e controle da doença.

A paracoccidioidomicose (PCM) é uma micose sistêmica causada por fungos termodimórficos das espécies *Paracoccidioides brasiliensis*, *P. americana*, *P. restrepiensis*, *P. venezuelensis* e *P. lutzii* (TEIXEIRA et al., 2009; TURISSINI et al., 2017). Essa doença é endêmica da América Latina sendo o Brasil o país com maior número de casos reportados, seguido por Colômbia, Venezuela, Equador e Argentina. No Brasil, apesar de não ser uma doença de notificação compulsória na maioria dos estados, estima-se que o número de casos de PCM varia de 3.360 a 5.600 por ano com regiões variando entre endemicidade baixa, moderada ou elevada. Em regiões com situação endêmica estável, a incidência anual da PCM varia de 1 a 4 casos a cada 100.000 habitantes (MARTINEZ, 2017). Comparada a todas as doenças crônicas causadas por fungos, a PCM exibe uma elevada taxa de mortalidade no Brasil (PRADO et al., 2009). Além disso, a PCM é causa de uma morbidade impactante para o nosso país por afetar uma parcela vulnerável da população em seu estágio de vida mais produtivo economicamente (MARTINEZ, 2017).

Um dos principais fatores de risco para se adquirir a infecção é a profissão ou atividades relacionadas ao manejo do solo contaminado com o fungo, como agricultores, trabalhadores rurais, preparadores de solo, jardineiros e transportadores de produtos vegetais. A falta de higiene, desnutrição, tabagismo e consumo de álcool também são fatores de risco para a PCM (DOS SANTOS et al., 2003; MARTINEZ; MOYA, 1992).

A infecção pelo fungo *Paracoccidioides* ocorre através da inalação de conídios e, ou fragmentos de hifas (forma infectante) que atingem os pulmões e se transformam em forma

leveduriforme (forma patogênica) (SAN-BLAS; NIÑO-VEGA, 2008). Uma vez dentro do hospedeiro, pode ocorrer disseminação do fungo a partir do parênquima pulmonar para os linfonodos regionais (complexo primário), podendo também se disseminar via corrente sanguínea e, ou linfática (SEVERO et al., 1979). Após a infecção, a progressão da doença e a forma clínica que cada indivíduo pode desenvolver vai depender de fatores ambientais, do *background* genético e da resposta imune desencadeada pelo hospedeiro (MENDES et al., 2017). As principais formas clínicas são a forma aguda/subaguda (FA), forma crônica (FC) e forma residual (FR).

A FA é caracterizada por acometer principalmente crianças, adolescentes e adultos jovens, apresenta história clínica de curta duração (mediana de dois meses) e atinge órgãos ricos de células do sistema fagocítico mononuclear como fígado, baço, linfonodos e medula óssea. A FC acomete em geral adultos com 30 anos ou mais, apresenta história clínica de longa duração (acima de seis meses) e acomete principalmente pulmões e mucosa das vias aero digestivas. Pacientes que apresentam sequelas após o tratamento são classificados como FR (SHIKANAI-YASUDA et al., 2017). A FR será detalhada mais adiante.

O diagnóstico da PCM depende principalmente da combinação de achados radiológicos, clínicos e laboratoriais (SHIKANAI-YASUDA et al., 2017). O diagnóstico padrão-ouro é a visualização do fungo nas amostras biológicas, onde estruturas fúngicas compatíveis com *Paracoccidioides* spp. são visualizadas sob microscopia óptica em amostras de escarro, fragmentos de lesões cutâneas ou materiais dos linfonodos (diagnóstico micológico). A visualização também pode ser feita por exames histopatológicos de fragmentos de tecido recolhidos através de biópsia (MENDES et al., 2017).

Os testes sorológicos também podem ser utilizados para o diagnóstico e os principais ensaios laboratoriais são a reação de contraimuno eletroforese (FIORILLO; MARTINEZ,

1984) e a imunodifusão dupla em gel de ágar (DE CAMARGO et al., 1988; RESTREPO, 1966). Além da detecção de anticorpos anti-*P. brasiliensis*, esses testes são utilizados para determinar a gravidade da doença e como critério de cura (MENDES et al., 2017).

Para o tratamento da PCM são utilizados os derivados azólicos, incluindo itraconazol (ITC) e fluconazol ou voriconazol; as sulfonamidas, como a associação sulfametoxazol-trimetoprim (ou cotrimoxazol- CMX); e os derivados poliênicos, como a anfotericina B (AmpB). Em estudo realizado por Cavalcante et al. (2014), foi demonstrado que o ITC apresenta melhor eficácia no tratamento da PCM em comparação com o CMX, considerando-se o menor tempo para os pacientes com a FC alcançarem a cura clínica. A partir desses achados, o ITC tem sido recomendado como droga de primeira escolha no tratamento da PCM (SHIKANAI-YASUDA et al., 2017). Apesar disso, nos casos de toxicidade por esse azólico e naqueles com acometimento de sistema nervoso central, o ITC não deve ser utilizado. A AmpB é reservada para casos mais graves e que exigem internação, em casos em que o paciente está recebendo terapia parenteral e em que há comprometimento intestinal grave, seu uso deve ser monitorado devido ao potencial efeito nefrotóxico (SHIKANAI-YASUDA et al., 2017).

Sabe-se que a erradicação do *Paracoccidioides* spp. é um processo lento e, por isso, o tratamento antifúngico tem duração de anos. Adicionalmente e, com exceção da AmpB, as opções de terapias para a PCM são limitadas a antifúngicos com características fungistática (SHIKANAI-YASUDA, 2015). Portanto, a efetividade do tratamento depende da recuperação da resposta imune adequada desenvolvida pelo hospedeiro. O controle da infecção fúngica é dependente da recuperação da resposta imune efetiva caracterizada pela ativação da resposta do tipo Th-1 antígeno-específica, (BENARD, 2008; BENARD; DUARTE, 2000; MENDES et al., 2017).

1.2. A forma residual (FR) da PCM.

A PCM está associada a um processo fibrosante que causa mudanças anatômicas nos órgãos afetados. As sequelas da PCM são geralmente observadas em múltiplos órgãos, com uma maior incidência nos pulmões seguida por pele, laringe, traqueia, adrenais, mucosa do trato aerodigestivo superior, sistema nervoso central e linfático (SHIKANAI-YASUDA et al., 2017).

Na laringe, observa-se fibrose nas cordas vocais, levando a inúmeras consequências entre elas a disfonia e consequentemente, dificuldade de socialização pela alteração na voz e aumento do risco de infecção pulmonar pela aspiração (WEBER et al., 2006). Quando ocorre na traqueia, há obstrução do ar levando a insuficiência respiratória necessitando, às vezes, de traqueostomia ou até correção cirúrgica para estenose traqueal. Nas glândulas adrenais, cerca de 14 a 44% dos pacientes desenvolvem a doença de Addison, que requer terapia de reposição hormonal contínua (COLOMBO; FAIÇAL; KATER, 1994; DEL NEGRO et al., 1980). As sequelas do sistema linfático abdominal podem levar à icterícia obstrutiva, como resultado do envolvimento de linfonodos no hilo hepático e síndrome de má absorção de proteínas e gorduras (LAUDANNA et al., 1975).

Noventa por cento dos pacientes com PCM apresentam comprometimento pulmonar (SHIKANAI-YASUDA et al., 2017) e 60% deles apresentam sequela pulmonar, que é caracterizada pela fibrose e enfisema pulmonares (RESTREPO et al., 2008; TOBÓN et al., 2003).

O comprometimento pulmonar pela PCM passou a ser reconhecido e valorizado graças ao estudo de Fialho (1946), que relatou os achados necroscópicos de 25 pacientes e relatou a presença de fibras reticulínicas e de colágeno em muitos deles. Após esse relato, Simão e

Moraes (1971) realizaram a avaliação broncográfica de 12 pacientes com PCM e observaram desvios e retrações dos brônquios principais e segmentares, irregularidade de contornos das paredes brônquicas e bronquiectasias – inclusive saculares. Os autores sugeriram que os achados broncoscópicos seriam decorrentes de um comprometimento intersticial, caracterizado por reação granulomatosa em torno dos parasitas e produção de colágeno envolvendo os granulomas e, ou, substituindo-os. Essa resposta inflamatória compromete os septos alveolares, que se tornam espessados e, por fim, fibróticos.

A seguir, Afonso et al. (1979) avaliaram a função pulmonar de 36 pacientes com PCM, 22 dos quais eram fumantes e 14 não fumantes. Os autores observaram que a função pulmonar era normal em sete (19,4%) pacientes, do tipo obstrutivo puro em 17 (47,2%), restritivo puro em três (8,3%) e misto em nove (25,0%). Essa distribuição não variava em função da duração da doença, isto é, menor ou igual a um ano e maior que um ano, demonstrando que as alterações pulmonares e os distúrbios ventilatórios podem ser bastante precoces. Além disso, a distribuição dos padrões obstrutivo puro e misto era a mesma entre fumantes e não fumantes, demonstrando que as alterações observadas eram causadas pela PCM, e poderiam estar associadas às induzidas pelo tabagismo.

Tuder et al. (1985) realizaram o estudo necroscópico de pulmões de pacientes com PCM e sugeriram que a resposta inflamatória em linfonodos para-traqueais e para-brônquicos levava à hipertensão linfática e extravasamento de linfa, células fúngicas e linfócitos para o parênquima pulmonar circunjacente, dando origem a um processo inflamatório de causa infecciosa.

As alterações da função respiratória estão relacionadas a lesões pulmonares (Pereira, 2002). Assim, o distúrbio ventilatório obstrutivo está relacionado a qualquer processo que interfira com o fluxo aéreo para dentro ou para fora dos pulmões e pode estar nas grandes ou

nas pequenas vias aéreas. O bloqueio das grandes vias aéreas é mais difícil pelo suporte cartilaginoso que possuem e pelo fluxo turbulento. Por outro lado, as pequenas vias aéreas, isto é, com menos de 2mm de diâmetro, não têm suporte cartilaginoso, que é exercido pelo tecido pulmonar circunjacente e possuem um fluxo laminar. É importante registrar que é grande a área da secção transversal das pequenas vias aéreas. Enfisema e bronquiectasias são causas de distúrbio ventilatório obstrutivo. O padrão restritivo é causado por qualquer processo que interfira com a função de fole dos pulmões, que resulta em volumes pulmonares restritivos, isto é, redução dos volumes pulmonares. As causas pulmonares mais comuns desse tipo de distúrbio são as doenças que causam fibrose ou infiltração dos tecidos.

A tomografia computadorizada de tórax trouxe grande contribuição ao conhecimento do comprometimento pulmonar na PCM, por possibilitar a visualização de lesões jamais observadas na radiografia convencional. A evolução dos tomógrafos levou aos de alta resolução, com resolutividade muito maior que a de seus antecessores. Marchiori et al. (2011) correlacionaram os achados da TC de tórax de alta resolução com as alterações do exame histopatológico de fragmentos de pulmão, dos mesmos pacientes. Os autores concluíram que havia uma boa correlação entre os achados tomográficos e histopatológicos. As lesões em vidro fosco (*ground-glass attenuation*) correspondem a inflamação ou fibrose dos septos alveolares; áreas de consolidação e grandes nódulos irregulares a exsudato inflamatório agudo no espaço alveolar, com fungos em abundância e tendência para evoluir para necrose e cavidade; pequenos nódulos a granulomas; espessamento interlobular septal a infiltração inflamatória ou fibrose. Outras evidências de fibrose são a distorção arquitetural e as lesões em favo de mel (*honeycombing*).

Depois de se demonstrar a relação entre os tipos de lesão, os achados broncográficos e tomográficos e os distúrbios ventilatórios, deve-se retomar o estudo de Afonso et al. (1979),

em que 26 pacientes apresentavam distúrbio ventilatório obstrutivo – 17 com padrão obstrutivo puro e nove com padrão misto, e 12 com padrão restritivo – três com padrão restritivo puro e nove com tipo misto. Portanto, além da atenção que tem sido dada ao comprometimento pulmonar que leva a um distúrbio ventilatório obstrutivo, também é preciso avaliar melhor as alterações patológicas que induzem um distúrbio ventilatório restritivo, que devem estar presentes em um terço dos casos.

A destruição do parênquima pulmonar pode levar, ainda, à alteração da relação ventilação-perfusão e a difusão, com hipoxemia, observada em 92% dos casos estudados por Afonso et al. (1979). A pressão parcial de gás carbônico arterial pode estar elevada nos casos mais graves – em 14% desses pacientes. Essa hipercapnia é decorrente da hipoventilação e do aumento da produção de CO₂. Em alguns casos, a hipoxemia e a acidose levam vasoconstrição e hipertensão secundária e, como consequência, ao cor-pulmonale crônico, demonstrado em 31% dos pacientes avaliados por Afonso et al. (1979).

Estudo anterior, em que foram avaliados a pequena circulação e o coração direito por cateterismo cardíaco, provas funcionais oximétricas e angiopneumografia, a hipertensão pulmonar foi demonstrada em quatro (18,2%) casos (Machado Filho et al., 1961). Yépez et al. (1962) avaliaram cinco pacientes com PCM e cor-pulmonale crônico. A avaliação funcional de dois casos revelou hipertensão pulmonar e insuficiência cardíaca congestiva. O estudo anátomo-patológico dos cinco casos revelou alterações semelhantes do parênquima pulmonar – granulomas, fibrose e enfisema. O coração revelava hipertrofia e dilatação das câmaras direitas. Os vasos pulmonares apresentavam lesões do tipo hiperplásico da túnica íntima, alterações da túnica elástica, hipertrofia da túnica média e trombose intra-vascular.

O cor-pulmonale, que em geral ocorre como sequela do tratamento, pode se manifestar como progressão da doença, independentemente da administração do composto antifúngico (SEVERO et al., 1979; MAGALHÃES, 1982).

Por fim, estudo recente, realizado na infecção experimental de ratos, sugere que o mecanismo fisiopatológico da hipertensão pulmonar estaria ligado à túnica adventícia dos vasos pulmonares, centro crítico da reconstituição mediada pelo microambiente pró-inflamatório e pró-fibrótico (BATAH et al., 2020).

1.3. A Fisiopatologia da fibrogênese na PCM.

A formação do granuloma é a principal resposta inflamatória desencadeada contra a infecção por *P. brasiliensis* e a morte do fungo ocorre pela ação do peróxido de hidrogênio produzido pelos macrófagos (CARMO et al., 2006), que é potencializada através da polarização da resposta imune para o tipo T *helper* 1 (Th1) (CALVI et al., 2003). Linfócitos efetores Th1, por sua vez, são ativados e polarizados através da ação de células apresentadoras de antígenos (APCs) e produção de interleucina (IL)-12. Linfócitos efetores Th1 específicos para *P. brasiliensis* são então recrutados para o local da infecção e secretam interferon γ (IFN- γ) que aumenta a ativação dos macrófagos (CALVI et al., 2003).

No halo periférico dos granulomas paracoccidióicos, são encontradas ainda, as APCs (MOSCARDI-BACCHI et al., 1989). A presença dessas células e a forte associação com os linfócitos Th1 favorecem a interação entre essas células e a secreção de citocinas. Consequentemente, a secreção desses mediadores atraem, fixam e ativam macrófagos para o foco inflamatório. Macrófagos ativados, por sua vez, aumentam sua atividade microbicida contra o fungo, sendo reconhecidos no tecido como células epitelióides (MOSCARDI-BACCHI et al., 1989).

Sabe-se que em granulomas causados por microrganismos imunogênicos, como o *Paracoccidioides*, que desencadeiam a resposta imune mediada por células, a fibrogênese é um processo marcante e é provavelmente relacionada a uma ação direta de citocinas produzidas por células do granuloma (BOROS, 1989). Em humanos, a lesão histopatológica desencadeada pela PCM pulmonar é caracterizada por uma reação pneumônica, formação de granuloma inicial, granulomas maduros, padrão misto (granulomas iniciais e maduros na mesma área pulmonar visualizada na lâmina) e FP (TUDER et al., 1985). Dessa forma, há um consenso entre alguns autores que consideram a fibrose observada na PCM pulmonar crônica como uma evolução progressiva do granuloma em cicatrização e em um menor grau, provavelmente a uma indução direta causada pelo fungo (TUDER et al., 1985).

Essa última hipótese foi recentemente avaliada pelo estudo de ALMEIDA DONANZAM et al. (2020), em que se demonstrou que exoantígenos de diversos isolados de *Paracoccidioides* spp. induziram proliferação de fibroblastos humanos e murinos. Nesse estudo, foi observado ainda que o cultivo dos exoantígenos com fibroblastos humanos promoveu o aumento da produção de fator de crescimento transformador beta 1 (TGF- β 1) e pro-colágeno I. Considerando que fibroblastos e o TGF- β 1 são peças-chaves no processo de fibrogênese, esses dados indicam que componentes do *Paracoccidioides* spp. interferem na fibrogênese por agir diretamente na biologia dos fibroblastos pulmonares (ALMEIDA DONANZAM et al., 2020)

Além da imunomodulação observada em fibroblastos, a interação do *Paracoccidioides* com outros tipos celulares no tecido pulmonar como células do sistema imune e células epiteliais alveolares (AEC) também parece induzir uma resposta pró-fibrótica. Em relação às células do sistema imune, foi demonstrado através de estudo *in vitro* com monócitos do sangue periférico derivados de pacientes com PCM ativa, que antígenos

de *P. brasiliensis* induziram o aumento da produção de IL1- β , fator de necrose tumoral (TNF- α), TGF- β 1 e fator de crescimento básico de fibroblastos (VENTURINI et al., 2014). Considerando que os metabólitos fúngicos apresentam papel importante na ativação dessas células e que os monócitos são precursores de vários macrófagos teciduais e células dendríticas e secretam vários mediadores imunológicos no ambiente pulmonar durante a inflamação, os autores sugerem que é possível que o recrutamento de monócitos especificamente estimulados para a lesão paracoccidióica poderia contribuir para a inflamação deletéria ao tecido e desencadear a ativação de fibrócitos e fibroblastos (VENTURINI et al., 2014).

Em relação a interação do *P. brasiliensis* com as células AECs foi visto que o *P. brasiliensis* pode se ligar a receptores nas AECs e induzir sua entrada (MENDES-GIANNINI et al., 2004; PERES DA SILVA et al., 2011a). Mendes-Giannini e colaboradores (2004), através de experimentos *in vitro* utilizando células epiteliais pulmonares (A549) e células Vero, estudaram e descreveram todas as etapas da invasão do *P. brasiliensis* na célula epitelial até a apoptose das mesmas. Os pesquisadores constataram que a internalização do *P. brasiliensis* pelas células epiteliais é um processo ativo e requer a participação de microfilamentos e microtúbulos. Os pesquisadores também observaram que durante os períodos iniciais da infecção na célula epitelial há recrutamento transitório de actina circundando o local da interação com o *P. brasiliensis*, e que após a finalização da invasão o citoesqueleto de actina retorna ao estado original, sem nenhum dano a membrana da célula epitelial. No entanto, a internalização causa mudanças na organização do citoesqueleto celular que passa a exibir fibras de estresse mais curtas (MENDES-GIANNINI et al., 2004).

Neste mesmo estudo foi observado que, além da mudança no citoesqueleto após a internalização, o *P. brasiliensis* induz uma diminuição do conteúdo das citoqueratinas das

células epiteliais, proporcionalmente ao tempo de incubação, resultando em células semelhantes a “fantasmas”. Interessantemente, este evento não foi observado com os outros componentes do citoesqueleto, como actina e tubulina. Apesar disso, após poucas horas de incubação os pesquisadores observaram formas leveduriformes de *P. brasiliensis* em células apoptóticas, processo que mudou após 24 horas em que se observou uma perda de equilíbrio entre a sobrevivência celular e os sinais de morte. Com esses resultados os pesquisadores sugeriram que *P. brasiliensis* permanece vivo dentro da célula tempo suficiente para gerar células em brotamento (MENDES-GIANNINI et al., 2004).

Além de se ligar a receptores das AECs, outros experimentos *in vitro* demonstraram que o *P. brasiliensis* pode se ligar aos componentes da matriz extracelular (ECM) do hospedeiro como colágeno, fibras de elastina, glicosaminoglicanos, proteoglicanos, fibronectinas, lamininas, sulfato de heparana, nidogênio/entactina, hialuronato, sulfato de condroitina e subtipos de colágeno I, III, IV e V (MENDES-GIANNINI et al., 2006). Neste processo de adesão, a glicoproteína de 43kDa (gp43) do *Paracoccidioides* é a glicoproteína mais conhecida e importante do *Paracoccidioides* spp., se ligando a laminina e a fibronectina do espaço extracelular do hospedeiro (DE OLIVEIRA et al., 2015). Sabe-se ainda que a gp43 é encontrado em soro de paciente com PCM e possui propriedades adesivas, indução de apoptose celular e modulação da resposta inflamatória local e sistêmica (GARDIZANI et al., 2019).

Os mecanismos de invasão na célula hospedeira, a persistência dentro da célula, e subsequente indução de apoptose dessa mesma célula, pode explicar o comportamento eficiente do *P. brasiliensis* em promover a infecção do tecido e, ou disseminação pela corrente sanguínea. Por outro lado, o fato de o *P. brasiliensis* induzir apoptose das células epiteliais (MENDES-GIANNINI et al., 2004) pode também explicar o fato de pacientes com PCM

apresentarem fibrose e exibirem limitações respiratórias graves (COSTA et al., 2013). Sabe-se que sinalizações pró-fibróticas podem ser desencadeadas pela perda das AECs. Neste contexto, foi demonstrado por Fine e colaboradores (1997) que as células do epitélio alveolar expressam CD95 (Fas/APO1), e que esse receptor ativa pro-caspases em caspases e induzindo a apoptose. Hagimoto e colaboradores (1999) observaram que a ativação do Fas *in vivo* poderia induzir apoptose das células epiteliais seguido por fibrose.

Diversos estudos *in vitro* investigando a relação fungo e células epiteliais pulmonares A549 demonstram que o *P. brasiliensis*, durante o processo de invasão, ativa receptores da superfície celular nas células desencadeando sinais físicos e bioquímicos similares aos observados na ativação da transição epitelial para mesenquimatosa (EMT). Entre eles, as vias de sinalização das pequenas proteínas G sinalizadoras (Rho GTPases)/Ras proteínas quinases ativadoras por mitógenos (MAPK) (MONTEIRO DA SILVA et al., 2007; SINHA; YANG, 2008), quinase regulada por sinal extracelular(ERK)/MAPK (MAZA et al., 2008) e p38, quinase terminal NH2 c-Jun , proteína tumoral 53 (P53), WNT e TGF- β (MAZA et al., 2012), (Figura 1).

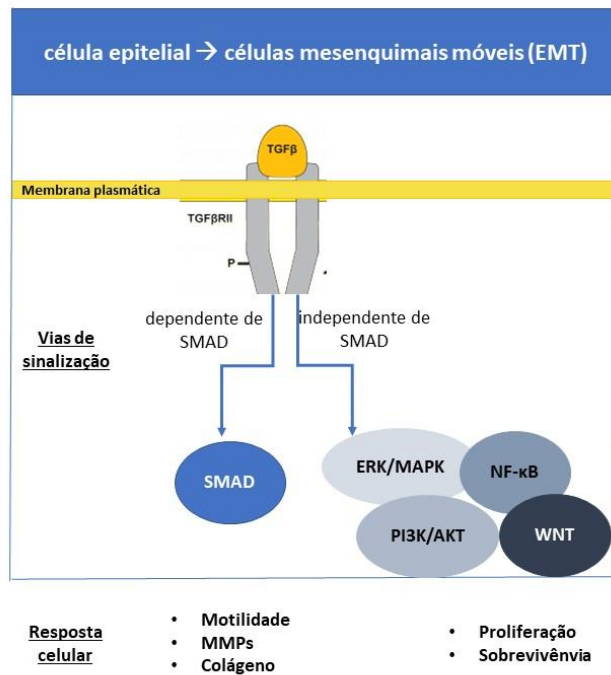


Figura 1. Processo transição epitelial para mesenquimatosa (EMT). Para que o processo de EMT ocorra, o TGF-β1 se liga ao complexo receptor serina/treonina (TGFβR) situado na membrana plasmática das células epiteliais e ativa, de forma coordenada, duas vias de sinalização intracelular separadas, a via de sinalização canônica dependente de SMAD e a via independente de SMAD. Na via TGFβ-SMAD, os fatores de transcrição SNAIL1, ZEB1 e TWIST1 são ativados. Esses fatores de transcrição diminuem a expressão da E-caderina (CDH1) fazendo com que as EMT do epitélio desestabilizem as junções aderentes, induzam a expressão de proteínas como a vimentinas, que são proteínas do filamento intermediário mesenquimatoso, ativem as GTPases, que por sua vez, induz motilidade, e aumentem a expressão das matrizes metaloproteínas (MMPs) e colágeno para induzir fibrogênese. Na via não-canônica, as vias de sinalização são as PI3 quinase (PI3K)-proteína quinase B (AKT), ERK/ proteínas quinases ativadoras por mitógenos (MAPK), p38 MAPK, WNT, NOTCH, Hedgehog e NF-κB (LAMOUILLE; XU; DERYNCK, 2014).

Por exemplo, um estudo demonstrou que as integrinas α3 e α5 estão envolvidas com a indução da secreção das citocinas IL-6 e IL-8 por células A549 e que o *P. brasiliensis* pode ativar justamente esses receptores em células epiteliais A549 (BARROS et al., 2016). Adicionalmente, foi demonstrado que não somente o *P. brasiliensis*, mas também *P. lutzii* e *P. americana* durante a interação com AECs, induzem a super-expressão de microRNAs

relacionados com as vias de sinalização MAPK, P53, Wnt e TGF- β (SINGULANI et al., 2020). Estes dados sugerem que o *P. brasiliensis* pode ligar-se em receptores usados por fatores de crescimento induzindo mudanças semelhantes nas AECs, modulando assim a inflamação do hospedeiro e induzindo a uma resposta pró-fibrótica.

Considerando os aspectos acima, a fibrogênese na PCM parece ser mais complexa do que simplesmente uma sequela da lesão granulomatosa. Em adição ao papel das fibras colágenas circundando os granulomas, a indução da resposta inflamatória causando danos teciduais e a interação *P. brasiliensis* com as células teciduais pulmonares induzindo apoptose e até a transição delas em células ativas com perfil excretor de reparo tecidual parecem fazer parte do microambiente pró-fibrótico durante a PCM ativa.

1.4. Fibrose pulmonar em modelo experimental murino de paracoccidioidomicose.

Modelos experimentais da PCM pulmonar têm nos permitido compreender melhor o curso desta micose sistêmica, principalmente nos momentos iniciais da doença e em outros contextos em que os estudos em seres humanos não são possíveis de serem realizados. O modelo experimental da PCM em Hamster Sírio (*Mesocricetus auratus*) foi um dos primeiros modelos amplamente utilizado no estudo da PCM, pois seu perfil de susceptibilidade ao fungo apresenta similaridades com a doença humana (ARRUDA; COELHO; MONTENEGRO, 1994; IABUKI; MONTENEGRO, 1979). Na década de 1980, observou-se o emprego de camundongos machos da linhagem BALB/c empregando-se conídios viáveis de *Paracoccidioides* spp. em inoculação intra-traqueal (DEFAVERI; REZKALLAH-IWASSO; DE FRANCO, 1982). Logo em seguida, os modelos murinos passaram a ser amplamente utilizados a partir dos estudos de suscetibilidade e resistência de diferentes linhagens de camundongos estabelecida por Calich e colaboradores (1985).

Um dos primeiros estudos experimentais em que se avaliou a FP foi o de Defaveri (1999) usando modelo murino, ele demonstrou a presença de granulomas paracoccidióidicos peribronquiolares, além da participação de citocinas na resposta inflamatória, demonstrada pela identificação destas substâncias por imunohistoquímica. Em seguida, Cock et al (2000) utilizou camundongos BALB/c infectados intratraquealmente com conídeos de *P. brasiliensis* e demonstrou que os camundongos apresentaram lesões granulomatosas a partir de duas semanas. Os pesquisadores constataram que a fibrogênese se inicia precocemente (após quatro semanas da infecção pulmonar) e se estabelece com oito semanas após a infecção.

Além de resposta granulomatosa tecidual bem consolidada e acompanhada pelo processo fibrótico no pulmão, foi observado elevadas concentrações de IL-6, IL-1 β , ligante

de quimiocina (CCL)3, IL-10, TGF- β 1, VEGF e IFN- γ nesse órgão (FINATO et al., 2020). O papel das citocinas pró-inflamatórias na fibrogênese é marcado pelo aumento do dano tecidual. Adicionalmente, fatores de crescimento reguladores observados no granuloma causado pelo fungo também podem possuir um papel importante na FP da PCM. Considerando o papel pró-fibrótico do TGF- β 1 e sua presença na dinâmica celular do granuloma, sugere-se que este mediador tenha papel crucial na fibrogênese da PCM.

Outro mecanismo que pode estar envolvido na fibrogênese da PCM é a resposta imune mediada pelas células Th2. Um aspecto crítico da resposta imune é o controle da diferenciação de células T auxiliares em subconjuntos Th1 ou Th2 que produzem predominantemente citocinas IFN- γ , IL-12, IL-8 e TNF- β ou IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, respectivamente. Sabe-se que as citocinas envolvidas com a resposta do tipo Th1 ou do tipo Th2 produzidas durante a indução da resposta imune inflamatória provavelmente determina o fenótipo responsável pela resolução do processo patológico ou progressão para fibrose (PARDO; SELMAN, 2002). Evidências apoiam a noção de que o fenótipo tipo 1 tem um profundo efeito anti-fibrótico, principalmente mediado por IFN- γ (DUNCAN; BERMAN, 1985; OKADA; SUGIE; AISAKA, 1993; YOKOZEKI et al., 1999; ZIESCHE et al., 1999), enquanto que as citocinas do perfil Th2 vêm demonstrando um potencial pró-fibrótico através da ativação de fibroblastos e produção de ECM (HASHIMOTO et al., 2001; ORIENTE et al., 2000; POSTLETHWAITE et al., 1992).

A hipótese de que o ambiente inflamatório anti-Th1 pode estar envolvido nas sinalizações pró-fibróticas durante a infecção pulmonar por *P. brasiliensis* foi demonstrada por Arango e colaboradores (2017). Em uma tentativa de aplicar células mesenquimais derivadas da medula óssea (BMMSCs) para o tratamento da FP em modelo experimental murino de PCM, os autores observaram que camundongos infectados com *P. brasiliensis* e

tratados com BMMSCs apresentaram um aumento da FP caracterizada por aumento de fibrócitos, colágenos e expressão de genes para TGF- β 3 e metaloproteinases no pulmão, além do aumento do número de neutrófilos e macrófagos com o perfil de reparo (M2) neste órgão. Posteriormente, foi visto que o *P. brasiliensis* interage diretamente com essas células mesenquimais, induzindo a internalização e a expressão de mediadores inflamatórios como IL-6, IL-17, TNF- α e TGF- β pelas BMMSCs (RODRIGUEZ-ECHEVERRI; PUERTA-ARIAS; GONZÁLEZ, 2021).

1.5. Modelo experimental de fibrose pulmonar (FP) induzida por bleomicina.

O modelo de FP induzido pela bleomicina (BLM) é o modelo experimental mais utilizado para testar novas drogas e investigar os mecanismos fisiopatológicos da fibrose pulmonar idiopática (FPI) (PENG et al., 2013). A FPI é uma doença progressiva caracterizada pela deposição excessiva de ECM no epitélio pulmonar causando a distorção da arquitetura do parênquima deste órgão. As principais características patológicas da FPI incluem: focos de fibroblastos ativados com perfil excretor de grande quantidade de ECM, áreas de cistos epiteliais associados à aparência em favo de mel e inflamação intersticial linfoplasmocitária leve, associada a áreas de hiperplasia de células do tipo II no pulmão (KING; PARDO; SELMAN, 2011). A etiologia da FPI é desconhecida, mas acredita-se que é decorrente de uma lesão constante às AECs na qual desencadeia as repostas de reparo tecidual. Esta resposta de reparo tecidual é conhecida por ser extremamente exagerada e é influenciada por células inflamatórias, sinalização de citocinas e fatores genéticos que culminam na fibrose tecidual (PARDO; SELMAN, 2002) (Figura 2).

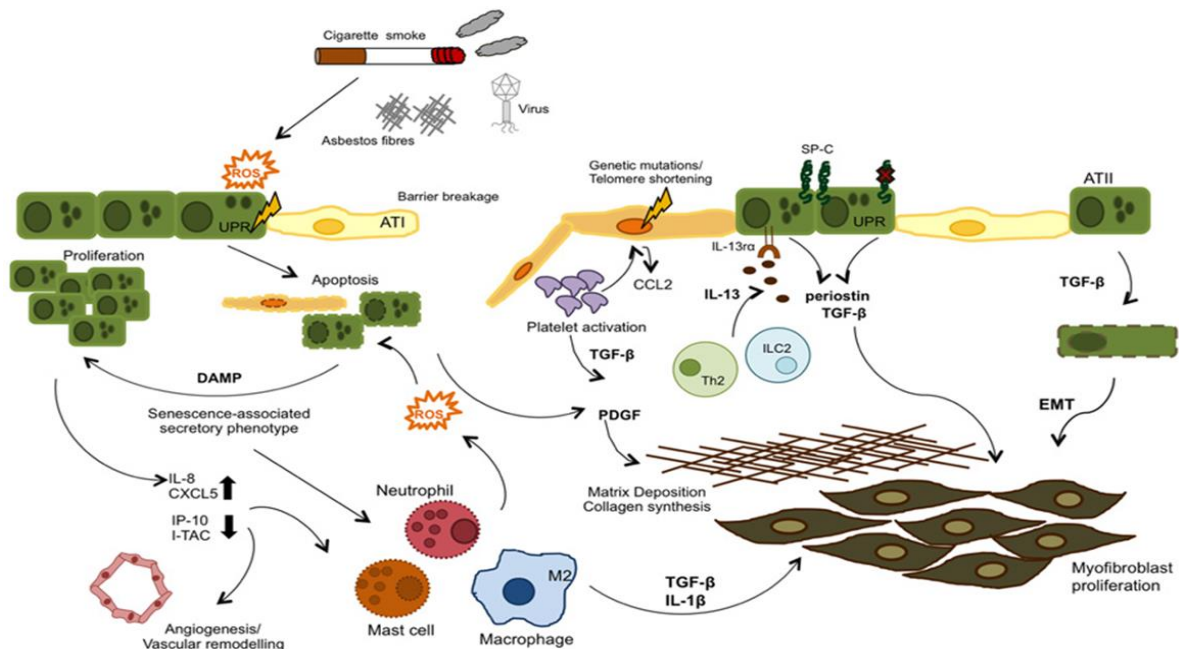


Figura 2. A fibrose pulmonar como consequência da desregulação do processo de reparo tecidual. Em um processo de reparo tecidual equilibrado, observa-se que após o dano ao epitélio pulmonar ocasionado, por exemplo, por um agente infeccioso, inicia-se uma resposta ao dano que envolve a indução do fenótipo secretor associado ao estado senescente nas células alveolares do tipo II. O fenótipo secretor associado à senescência, onde células epiteliais danificadas produzem citocinas, quimiocinas e padrões moleculares associados ao perigo (DAMPs) vão atrair leucócitos, para o local da injúria e também ativar a cascata da coagulação com o objetivo de reparar o dano tecidual. As células inflamatórias, com perfil de reparo, assim como as plaquetas ativadas pelo processo de coagulação são fonte de TGF- β . O TGF- β , por sua vez, induz a transformação de células epiteliais em fibroblastos através de um processo conhecido como transição epitelial para mesenquimatosa (EMT). Nos fibroblastos, a sinalização do TGF- β induz sinais de multiplicação, sobrevivência e síntese de colágeno, processo base para a deposição de matriz extracelular. Após a resolução do dano, os fibroblastos e células inflamatórias sofrem apoptose, há remodelação tecidual pela ação das metaloproteínas e suas inibidoras, e o tecido volta a sua função normal. Na fibrose pulmonar idiopática observa-se desregulação em todas as vias apresentadas acima (CAMELO et al., 2014).

As BLMs são uma família de componentes produzidos pela bactéria *Streptomyces verticilli*. Essa família de compostos possui propriedade antitumoral potente, causando pequena supressão na medula óssea e toxicidade pulmonar como efeito colateral. Os mecanismos da toxicidade celular causada pela BLM foram bem descritos baseado em experimentos *in vitro* com ácido desoxirribonucleico (DNA). A molécula da BLM possui

dois componentes estruturais principais, bitiazol e imidazol. Sabe-se que o bitiazol intercala parcialmente com a hélice do DNA, separando as fitas bem como as estruturas de pirimidina. Já o imidazol, liga-se ao ferro e oxigênio formando um complexo ativado capaz de liberar oxidantes que causam danos nas proximidades das cadeias polinucleotídicas do DNA. Além disso, a BLM é capaz ainda de causar dano celular através da indução da peroxidação de lipídeos, o que pode ser bem prejudicial para o pulmão e, em parte, explica sua capacidade de causar danos às células alveolares e subsequente inflamação pulmonar (HAY; SHAHZEIDI; LAURENT, 1991).

Como citado acima, a BLM é bem conhecida por induzir dano pulmonar que resulta em resposta inflamatória aguda que, provavelmente, não reflete os processos que levam à FPI nos pacientes. Porém, a fase inflamatória é seguida por alterações fibróticas, que mimetiza certas características patológicas consistentes com aquelas associadas a FPI (PENG et al., 2013). O início e a duração da FP induzida por BLM em camundongos é bem documentada e é dependente da linhagem de camundongo utilizada, da dosagem de BLM e ainda do método de inoculação (HARRISON; LAZO, 1987). Apesar da maioria dos modelos animais para esta doença aplicarem uma dose BLM pela via intra-traqueal, alguns estudos induzem a resposta pró-fibrótica pela via intraperitoneal já que esta abordagem é mais próxima da abordagem sistêmica utilizada em quimioterapia (SWIDERSKI et al., 1998; TABATA et al., 2007).

Um resultado comum, mas não invariante, da fase aguda do dano pulmonar causado pela BLM é a FP com um acúmulo excessivo de tecido fibrótico no interstício pulmonar, apresentando consequências dramáticas na função do tecido que depende de uma ultraestrutura fina com distâncias extremamente pequenas entre o sangue e o ar (LAURENT,

1986). Esse tecido fibrótico é caracterizado pela deposição de ECM que é composto predominante por proteínas e glicoproteínas, das quais a mais abundante é o colágeno.

A localização da deposição de colágeno pode ser alterada dependendo da via de administração da BLM. Se a administração da BLM for sistêmica, a deposição de colágeno será perivascular e subpleural (HARRISON; LAZO, 1987). Já a administração intra-traqueal causa depósitos focais na região peribrônquica e subpleural (HARRISON; LAZO, 1987; LAURENT et al., 1981). Por exemplo, Penge e colaboradores (2013), utilizaram o modelo experimental de camundongos inoculados intratraquealmente com 2UI/Kg de BLM em dose única ou repetidas e observaram que a resposta primária após uma semana da inoculação é caracterizada pela inflamação pulmonar contendo células inflamatórias, fluídos proteináceos no interstício e no espaço alveolar e poucos fibroblastos. Após duas semanas da inoculação observou-se uma fibrose alveolar e intersticial com obliteração dos espaços alveolar e hiperplasia bronco-alveolar progressiva até desaparecimento completo ou parcial do alvéolo. Com o passar do tempo, a fibrose se tornou progressivamente intersticial acompanhada de espessamento dos septos alveolares bem definidos. Em momentos posteriores, a fibrose apresentou-se, principalmente, perfil intersticial. O espaço alveolar foi preenchido por material anfófilo finamente granular a homogêneo que foi posteriormente fagocitado por macrófagos infiltrados e células gigantes multinucleadas. Os neutrófilos foram observados ocasionalmente. O septo parcialmente colapsado revestido por pneumócitos do tipo I foi também observado com frequência nos momentos posteriores da inoculação. Os autores observaram, ainda, que tanto o modelo de dose única quanto o modelo de doses repetitivas de BLM apresentam características histológicas similares com o passar das semanas (PENG et al., 2013).

Em contrapartida, outro estudo utilizando o mesmo modelo de FP, com inoculação intra-traqueal de 0,04 unidades de BLM, encontrou diferenças nas análises histopatológicas dos camundongos inoculados com dose única ou múltiplas (DEGRYSE et al., 2010). Os autores observaram um pico de células apoptóticas e necróticas nos pulmões após uma semana da inoculação; no entanto, na segunda semana após inoculação houve diminuição da morte celular o que foi interpretado pelos autores como período de reparação do epitélio alveolar, sendo então mais sensível a uma segunda inoculação. O estudo utilizou então oito inoculações de BLM quinzenalmente. Após esse período foi observado uma proeminência da hiperplasia de AEC revestindo as áreas de fibrose, característica essa ausente no modelo de dose única e, extremamente comum em biópsia pulmonar de FPI humana (DEGRYSE et al., 2010).

O método de inoculação intraperitoneal de BLM para a indução da FP também vem sendo utilizado por se aproximar mais da abordagem sistêmica. Foi visto que camundongos inoculados intraperitonealmente com 4 U de BLM (quatro inoculações com 1U durante 7 dias), após dois meses da última inoculação, exibiram desarranjo alveolar, espessamento subpleural progressivo (avançado após quatro meses do tratamento) e focos fibróticos caracterizados pela deposição de colágeno, observados pela coloração com azul de tricrômico de Masson (SWIDERSKI et al., 1998).

Os modelos experimentais de FP experimentais têm exibido uma predominância de resposta do tipo Th2, reforçando a hipótese de que a reação do tipo Th2 está relacionada à fibrose (GHARAEI-KERMANI et al., 1998, 2001; WESTERMANN et al., 1999). No modelo de BLM, a lesão fibrótica está relacionada ao aumento da expressão de IL-4 e IL-5 por células mononucleares (GHARAEI-KERMANI et al., 1998, 2001), e ainda, o uso de

anticorpo anti-IL-5 induziu redução significativa na eosinofilia pulmonar, expressão de citocinas e fibrose (GHARAEI-KERMANI et al., 1998).

Apesar do consenso de que a inflamação é um evento crucial que precede o desenvolvimento da FP, recentemente, tem sido hipotetizado que essa via se aplica para a maioria das FP que são consequência da doença inflamatória intersticial, mas não para FPI. Alguns pesquisadores vêm sugerindo que na FPI, a fibrose parece ser um processo patológico independente da inflamação crônica. Adicionalmente a doenças humanas, alguns modelos experimentais tem mostrado evidências de que é possível ter uma fibrose independente de inflamação crônica desenvolvido em consequência de micro injúrias epiteliais com ativação das AEC e um reparo tecidual anormal (SELMAN et al., 2001). Neste contexto, vários estudos de localização celular por hibridização *in situ* e imuno-histoquímica demonstraram que na FPI as AEC são o principal local de síntese do fator de crescimento derivado de plaquetas, TGF- β , TNF- α , todos eles essenciais para o desenvolvimento da FP (ANTONIADES et al., 1990; KAPANCI et al., 1995; KHALIL et al., 1991, 1996; NASH et al., 1993).

O mediador pró-fibrótico mais potente e, até agora, mais estudado no processo da fibrogênese é o TGF- β . Sabe-se que em modelo experimental de FP induzida por BLM, o TGF- β 1 se encontra com expressão elevada nas células epiteliais e fibroblastos intersticiais e ainda é produzido em elevada quantidade por macrófagos alveolares (KHALIL; O'CONNOR, 2008). Evidências diretas do papel do TGF- β na FP induzida por BLM foi sugerido por estudos de Khalil e colaboradores (1989). O grupo demonstrou que o nível elevado de TGF- β 1 é observado após horas da administração de BLM e que o pico do nível deste mediador precede a máxima da síntese de colágeno. O padrão da coloração de imuno-

histoquímica sugere produção inicial de TGF- β 1 pelos macrófagos e este mediador foi, mais tarde, associado com áreas de produção de ECM (GROTENDORST, 1984).

Nas células epiteliais pulmonares, o TGF β 1 atua como agente ativador do processo de EMT (XU; LAMOUILLE; DERYNCK, 2009). Estudos experimentais demonstraram que a EMT contribui para a população de fibroblastos pulmonares na FP induzida pela BLM (KIM et al., 2006, 2009). Adicionalmente, foi observado que após duas semanas da administração da dose única de BLM, um terço dos fibroblastos pulmonares (marcador de fibroblastos S100A4, também conhecido como proteína 1 específica de fibroblastos-FSP1) eram de linhagem epitelial (TANJORE et al., 2009). Já em modelo de doses repetitivas de BLM, foi descoberto que quase metade de fibroblastos S100A4⁺ são derivados da via EMT. Os autores sugerem que a lesão repetitiva do epitélio alveolar pode levar a uma maior propensão a ser submetido a EMT (DEGRYSE et al., 2010).

1.6. Fibrose hepática (FH) induzida por tetracloreto de carbono (CCl₄).

A fibrose hepática (FH) é uma condição patológica caracterizada pela proliferação anormal de fibroblastos e o acúmulo de tecido conjuntivo conectivo fibroso resistente (tecido cicatricial) no fígado. Processos normais de reparo tecidual envolvem deposição de colágeno, porém a ativação crônica desse mecanismo no fígado pode levar a processos patológicos como a cirrose (AHMAD; AHMAD, 2012).

A fibrose e a cirrose induzidas por CCl₄ é um dos modelos experimentais à base de toxinas mais antigo e provavelmente o mais usado para o estudo da FH. Esse modelo é vantajoso por ter sido bem caracterizado e em muitos aspectos espelha o padrão de doença visto na fibrose humana e cirrose associada a danos tóxicos (WALKIN et al., 2013).

O processo pelo qual o CCl₄ leva a FH já é bem conhecido. Este composto é metabolizado no fígado pelo citocromo P450 da super família das monooxigenases (CYP) ao radical triclorometil (CCl₃). Subsequentemente, este radical reage com ácidos nucleicos, proteínas e lipídeos prejudicando assim os principais processos celulares resultando em um metabolismo de lipídeos alterado (degeneração de gorduras e esteatose) e quantidade de proteínas diminuídas. A formação de adutos entre CCl₃ e o DNA desencadeia ainda mais mutações o que colabora para a formação de carcinoma hepatocelular. A formação de radicais de triclorometilperóxido (CCl₃OO*), resultante da oxigenação do CCl₃, inicia ainda a peroxidação lipídica e a destruição de ácidos graxos poliinsaturados. Consequentemente, a permeabilidade da membrana de todos os compartimentos celulares (mitocôndria, retículo endoplasmático e membrana plasmática) é diminuída ocorrendo um dano hepático generalizado levando a inflamação, fibrose, cirrose e carcinoma hepatocelular (WEBER; BOLL; STAMPFL, 2003).

A toxicidade do CCl_4 apresenta-se em três ou quatro fases: as primeiras duas ou três semanas são caracterizadas principalmente por necrose indicada pelo aumento da atividade de enzimas específicas do fígado e diminuição nos valores de pseudocolinesterase. Durante as duas ou três semanas seguintes ocorre um grande acúmulo de gordura hepática e os níveis séricos de triglicerídeos e aspartato aminotransferase (AST) aumentam significativamente, enquanto a função hepática é reduzida; durante a terceira fase, o aumento da AST continua, níveis elevados de hidroxiprolina e triglicerídeos são encontrados e a função hepática geral diminui ainda mais; na fase final, os valores de pseudocolinesterase diminuem ainda mais, e atrofia do fígado é observada. Isso pode ser combinado com uma diminuição significativa da albumina sérica e perda de peso que indica perda progressiva da função hepática durante a fibrogênese prolongada.(PAQUET; KAMPHAUSEN, 1975).

O modelo CCl_4 é o mais bem caracterizado em relação às alterações histológicas, bioquímicas, celulares e moleculares associadas ao desenvolvimento de fibrose. O CCl_4 pode ser administrado por via intraperitoneal ou por gavagem; induz necrose da zona III e apoptose de hepatócitos com ativação de células estreladas hepáticas (HSC) associadas e fibrose tecidual. Em um modelo de FH induzido pela inoculação intraperitoneal de CCl_4 duas vezes por semana durante seis semanas em camundongos C57Bl/6 resultou em necrose periportal com dano máximo após 24 e 48 h da última inoculação, refletindo níveis séricos de alanina aminotransferase extremamente elevados. O dano tóxico foi acompanhado por um influxo considerável de leucócitos no fígado com predominância de células mieloides mononucleares (KARLMARK et al., 2009).

Em outro estudo usando camundongos BALB/c com inoculações intraperitoneais de CCl_4 duas vezes por semana, foi observado FH caracterizada por grande quantidade de fibras de colágeno circundando a veia central hepática acompanhada de distorção na arquitetura do

órgão, assim como níveis elevados de colágeno do tipo I e actina α do músculo liso (α -SMA) (SAYED et al., 2021). A lesão hepática induzida por CCl₄ apresenta duração e períodos de recuperação variáveis e dependente do período de administração do CCl₄, embora na fibrose mais avançada a extensão da recuperação possa ser limitada.

De modo geral, células do sistema imune inato e adaptativo ativadas estimulam as HSCs a secretar proteínas de ECM resultando em alterações fibróticas no fígado que prejudicam gravemente suas funções fisiológicas (Figura 3). Porém, os mecanismos pelo qual a resposta imune pró-fibrótica no fígado inflamado são negativamente reguladas permanecem desconhecidos. As células de Kupffer provocam efeitos divergentes na FH, promovendo a ativação das HSC em face da lesão contínua ou, inversamente, induzem a apoptose das células estreladas durante a regressão. Esses papéis divergentes sugerem que diferentes populações de macrófagos estão envolvidas em cada estágio ou, mais provavelmente, que a função dos macrófagos muda durante a fibrogênese em resposta a citocinas no microambiente.(RICARDO; VAN GOOR; EDDY, 2008).

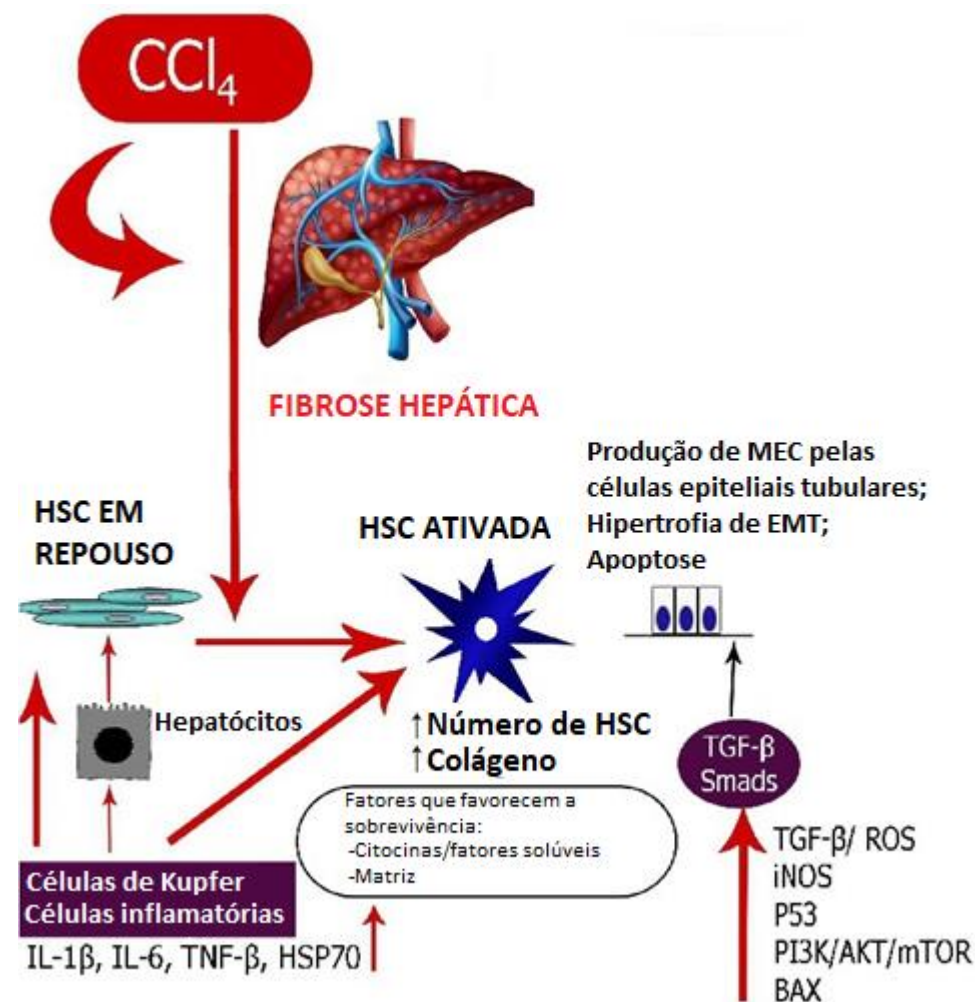


Figura 3. Mecanismos celulares e moleculares envolvidos na fibrose hepática. A reação de fase aguda no modelo murino de tetracloreto de carbono (CCl_4) é caracterizada por estresse oxidativo, dano tecidual com necrose de hepatócitos centro-lobulares, ativação das células de Kupffer (CK) e a indução de resposta inflamatória. Padrões moleculares associados ao perigo (DAMPs), como proteína 1 do grupo de alta mobilidade (HMGB1) e produtos de peroxidação lipídica advindos dos hepatócitos mortos e mediadores pró-inflamatórios como IL-1 β , IL-6 e TNF- α produzidos pelas células de Kupffer atraem neutrófilos para o tecido danificado. O influxo de neutrófilos geralmente agrava o dano tecidual agudo através da secreção de mediadores citotóxicos como as espécies reativas de oxigênio (ROS) e nitrogênio (iNOS) e também de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β e TNF- α . Esses mediadores provocam uma mudança fenotípica nas células estelares hepáticas (HSCs) quiescentes, que se tornam ativadas. As células estelares hepáticas ativadas é a principal fonte de miofibroblastos no tecido lesionado e são fonte de crescimento principalmente TGF- β . Nas células epiteliais do fígado, o TGF- β diversifica várias vias que vão induzir nessas células a transformação epitelial para mesenquimatosa (EMT). Entre elas, as vias das proteínas: proteína tumoral 53 (P53), fosfoinositídeo 3-quinases (PI3K), proteína quinase B (AKT) e alvo mamífero da rapamicina (mTOR) e BCL2 Associado X, Regulador de Apoptose (BAX) vão resultar em sinais de migração, sobrevivência, multiplicação e produção de matriz extra celular. (Adaptado de BADR et al., 2019).

2. RACIONAL DA PESQUISA

A PCM é uma micose granulomatosa, causada por fungos termodimórficos do gênero *Paracoccidioides*. Mesmo após tratamento antifúngico eficaz, a maioria dos pacientes apresentam sequelas, que é caracterizada pela fibrose em alguns dos órgãos comprometidos, principalmente nos pulmões. Essas sequelas levam ao comprometimento funcional e incapacitação do paciente. Evidências observadas em pacientes e em modelos experimentais indicam que a fibrose observada como sequela pulmonar da PCM é um processo precoce e vai além da fibrogênese relacionada com o processo granulomatoso.

Nossa hipótese de trabalho é que o *P. brasiliensis*, durante o processo infeccioso no pulmão, causa uma imunomodulação no microambiente pulmonar na qual, através da interação com as células epiteliais, macrófagos e fibroblastos consegue polarizar a resposta imune para o perfil pró-fibrótico. Se essa hipótese for correta, a identificação de proteínas chaves do processo pró-fibrótico, já identificadas em outros modelos experimentais de fibrose no contexto não infeccioso, poderiam revelar biomarcadores alvos para ação de drogas anti-fibróticas.

O maior desafio para o estudo da fibrogênese da PCM é que, diferentemente da maioria das doenças fibróticas, o microambiente fibrogênico é também um microambiente infeccioso, no qual qualquer regulação imunomodulatória, com o objetivo de evitar a resposta pró-fibrótica pode ocasionar um ambiente propício para a multiplicação e sobrevivência do *P. brasiliensis* o que, obviamente, seria ainda mais prejudicial para o paciente. Considerando essa questão, nossa principal pergunta é: como identificar o processo de fibrogênese em um ambiente infeccioso tão complexo quanto o pulmão infectado por *P. brasiliensis*? Como identificar proteínas-chaves envolvidas com a resposta pró-fibrótica, mas que ao mesmo tempo não são fundamentais para a resposta imune contra o *P. brasiliensis*?

Neste contexto, os modelos de FP e hepática induzidos por BLM e CCl₄, respectivamente, que são dois modelos de fibrose muito bem estudados na literatura, surgem como uma ferramenta, que aliado a proteômica e a bioinformática podem nos ofertar o poder discriminatório para a identificação de proteínas chaves para o processo da fibrogênese na PCM. Através do estudo do proteoma pulmonar e hepáticos de camundongos com fibrose e, ou com PCM pode-se: 1) identificar proteínas e vias alteradas em pulmões de camundongos com PCM através da comparação com camundongos saudáveis e, 2) dentre essas vias e proteínas alteradas, podemos entender quais delas estão relacionadas especificamente com a resposta pró-fibrótica através da comparação com os modelos de FP e FH.

Considerando ainda a necessidade da identificação de drogas eficazes para o tratamento da seqüela pulmonar da PCM e que os modelos de FP e FH utilizados nesse estudo estão avançados no que se trata de identificação de proteínas-chaves para o tratamento da fibrose, a identificação de vias e proteínas em comuns em pulmões fibróticos de camundongos infectados com *P. brasiliensis* que estejam alteradas e que já sejam alvos de tratamento nos modelos de FP induzida por BLM e FH induzida por CCl₄ para direcionar a pesquisa de novas drogas para o tratamento ou a prevenção da fibrose da PCM.

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Identificar proteínas-chave envolvidas na fibrogênese pulmonar na PCM pulmonar murina.

3.2. Específicos

- Determinar o perfil proteômico de pulmões de camundongos infectados com *P. brasiliensis* em estágio de consolidação da FP, através da comparação do proteoma de pulmões saudáveis de camundongos controles.
- Comparar o perfil proteômico de pulmões de camundongos infectados com *P. brasiliensis* em estágio de consolidação da FP com tecidos fibróticos obtidos dos modelos de fibrose pulmonar induzido por BLM e FH induzida por CCl₄

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Camundongos. Camundongos BALB/c machos, com 8 a 12 semanas de idade, foram adquiridos do Instituto Lauro de Souza Lima, Bauru, SP, Brasil. Camundongos machos C57Bl/6, com 8 a 12 semanas de idade, foram criados em uma instalação específica livre de patógenos na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brasil. Todos os camundongos foram mantidos no Biotério do Laboratório de Imunopatologia Experimental, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Bauru, SP, Brasil. Alimentos e água esteril foram fornecidos ad libitum. Todos os protocolos utilizados estavam de acordo com os princípios éticos para pesquisa animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. O Comitê de Ética da Faculdade de Ciências da UNESP, Bauru, SP, Brasil, aprovou este estudo (Processo nº 760/2016).

4.2 Modelo experimental de fibrose pulmonar causada pela infecção por *P. brasiliensis*.

P. brasiliensis (isolado 326, acesso GenBank: MH367529.1), isolado de aspirado de linfonodo cervical de uma paciente com PCM-FA junto ao Departamento de Doenças Tropicais da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP (Botucatu, SP). O isolado foi incubado a 35 °C na fase leveduriforme, com subculturas quinzenais, em meio de cultura ágar glicose extrato de levedura peptona. A viabilidade do fungo foi monitorada por coloração com lactofenol (azul de algodão). Camundongos BALB/c foram inoculados com 10⁶ leveduras de *P. brasiliensis* pela via intra-traqueal em solução salina tamponada esteril (SBS) (grupo FP-PCM), enquanto os animais não infectados receberam apenas SBS, grupo controle (CTRL). Para inoculação intra-traqueal, os camundongos foram anestesiados com administração intraperitoneal de ketamina (80 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg). Após 8 semanas

(período em que a FP já está estabelecida, conforme demonstrado em estudo anterior utilizando este mesmo modelo – (FINATO et al., 2020), os camundongos foram anestesiados com inalação de isoflurano, seguida de inalação de dióxido de carbono. Autópsias foram realizadas para coletar os pulmões.

4.3 Modelo experimental de fibrose pulmonar induzida por BLM. Camundongos BALB/c foram injetados intraperitonealmente com sulfato de BLM (2 mg/camundongo/dia; Sigma-Aldrich) nos dias, 8 e 15 (grupo FP-BLM). Os camundongos foram sacrificados quatro semanas após o primeiro tratamento com BLM (TABATA et al., 2007), com inalação de isoflurano, seguida de inalação de dióxido de carbono. Autópsias foram realizadas para coletar os pulmões.

4.4 Modelo experimental de fibrose hepática (FH) por tetracloreto de carbono (CCl₄). Camundongos C57Bl/6 receberam 0,6 mL/kg de peso corporal de CCl₄ misturado com óleo de milho, intraperitonealmente. Para indução de FH, CCl₄ foi injetado duas vezes por semana durante seis semanas (grupo FH). Os camundongos foram sacrificados 48 horas após a última injeção (KARLMARK et al., 2009), com inalação de isoflurano, seguida de inalação de dióxido de carbono. Autópsias foram realizadas para coletar o fígado. Como controles, os animais receberam o mesmo volume do traçador (óleo) por via intraperitoneal (grupo CTRL-F).

4.5 Análise histopatológica. Fragmentos dos pulmões e fígados foram fixados em formol tamponado a 10% e posteriormente, foram embebidos em parafina e cortados em secções de 4 µm. Em seguida, as lâminas com os cortes foram submetidas a coloração com hematoxilina

e eosina. Para a avaliação da deposição de fibras de colágeno III, secções foram submetidas a técnica de reticulina de Gomori. As imagens foram capturadas em câmera digital acoplada ao microscópio óptico (Axiostar HBO plus 50/AC Fluorescence Microscopy) e analisadas no software Image J (versão 1.51k).

4.6 Recuperação de fungos viáveis em modelo experimental de fibrose pulmonar

causada pela infecção por *P. brasiliensis*. Amostras de pulmões de camundongos do grupo

FP-PCM foram pesadas e maceradas em 1,0 ml de salina tamponada com fosfato estéril. A

partir desta solução um volume de 100 µl foi espalhado em duplicata sobre placas de cultura,

usando uma alça T de Drigalski, contendo meio caldo cérebro coração suplementado com

4% de soro de cavalo e 1% de gentamicina. As placas foram seladas e incubadas a 35°C

durante 1-2 semanas. O número de unidades formadoras de colônias (UFC) foi normalizado

por grama de tecido.

4.7 Análise Proteômica. As amostras foram preparadas para análise proteômica conforme

descrito anteriormente (KHAN et al., 2019). Moinho criogênico usado para a

homogeneização do tecido congelado. Para extrair as proteínas, o homogenato de fígado e

pulmão foi incubado em tampão de lise contendo 7 M de ureia, 2 M de tiouréia, e 40 mM

ditiotreitol (DTT) por 1 h a 4° C com agitação frequente. Em seguida, o homogenato foi

centrifugado a 15.000 rpm por 30 min a 4°C e o sobrenadante contendo proteínas solúveis

foi coletado. As proteínas foram quantificadas pela técnica de Bradford. Todas as amostras

foram padronizadas para uma concentração de 1µg/µL. Para 50 µL de amostra, 10 µL de 50

mM de bicarbonato de amônio foram adicionados, antes das etapas a seguir. Primeiro, 25 µL

de RapiGest 0,2% foram adicionados e incubados a 80 °C por 15 min. Secundariamente, 2,5

μL de DTT 100 mM foram adicionados e incubados a 60 °C por 30 min. Posteriormente, 2,5 μL de 300 mM de iodoacetamida foi adicionado e incubado por 30 min à temperatura ambiente (com ausência de luz) e então, 10 μL de tripsina foram adicionados e a digestão ocorreu por 14 h a 37 °C. Após a digestão, foram adicionados 10 μL de ácido tricloroacético a 5 % e a amostra foi deixada em fase de incubação por 90 min a 37 °C. A amostra foi então centrifugada (16.000 g por 30 min). Finalmente, o sobrenadante foi coletado e foram adicionados 5 μL de álcool desidrogenase (1 pmol/ μL) e 85 μL de acetonitrila a 3%.

4.8 LC-MS/MS e análise de bioinformática. O sistema NanoACQUITY UPLC-Xevo QT MS foi usado para separar peptídeos usando o algoritmo de contagem de íons. A identificação das proteínas foi feita através da consulta ao banco de dados UniProt (Universal Protein Resource) em fevereiro de 2018, usando o catálogo para *mus musculus*. Para determinar as diferenças de expressão entre os grupos estudados, o software ProteinLynx Global Server (PLGS) Expression E foi usado, onde o valor de $p < 0,05$ e $p > 0,95$ foram os parâmetros para determinar a sub- ou super expressão de proteínas, respectivamente. A análise de bioinformática foi realizada através do mapeamento dos números de acesso (ID) das proteínas frente ao banco de dados UniProt, onde somente as proteínas revisadas foram selecionadas. Para a identificação das vias em que as proteínas selecionadas faziam parte, o ID Uniprot de cada proteína foram submetidos separadamente ao banco de dados de vias *Reactome* usando o software *Cytoscape plug-in ClueGo v2.0.7 + CluePedia v1.0.8*. Os parâmetros de análise utilizados foram padrão, que especificam um teste estatístico de enriquecimento (teste hipergeométrico do lado direito) com um método de correção de Bonferroni step-down, tipo de análise de 'grupo único', usando a lista de agrupamento de

genes para *mus musculus*, códigos de evidência 'all', especificidade de rede: médio (níveis ontogenia gênica 3 a 8) e um limite de pontuação kappa de 0,4.

5. RESULTADOS

5.1. Caracterização dos modelos experimentais

Após oito semanas da infecção pulmonar por *P. brasiliensis*, camundongos do grupo FP-PCM exibiram carga fúngica média de 10^3 UFC por grama de tecido pulmonar. A análise histopatológica dos pulmões dos camundongos infectados, quando comparados aos pulmões saudáveis do grupo CTRL (Fig. 4A e 4B), revelou lesões em todos os lobos correspondendo a 65-80% da área total do tecido (Fig. 4C). As lesões foram caracterizadas pela presença de granulomas grandes e confluentes. Os granulomas apresentaram células fúngica com padrão leveduriforme, células epitelióides e células gigantes no centro, circundadas por linfócitos e células mononucleares na periferia. Além disso, vários focos com infiltrado inflamatório de células polimorfonucleares e poucas áreas de necrose foram observadas (Fig. 4C). A coloração pela técnica de reticulina de Gomori revelou a deposição de fibras reticulares (colágeno III) na periferia dos granulomas, brônquios e artérias (fig. 4D) e septos alveolares.

A análise histopatológica dos pulmões dos camundongos do grupo FP-BLM revelou que os septos interalveolares se tornaram espessados contendo infiltrado de células inflamatórias (Fig. 4E) e deposições de colágeno no interstício (Fig. 4F).

A análise histopatológica dos fígados dos camundongos do grupo FH revelou dano no espaço periportal com necrose e infiltrado monocítico pronunciado (Fig. 4G). Através da coloração pela técnica de reticulina de Gomori foi observado deposição significativa de colágeno nas regiões interlobulares (Fig. 4H).

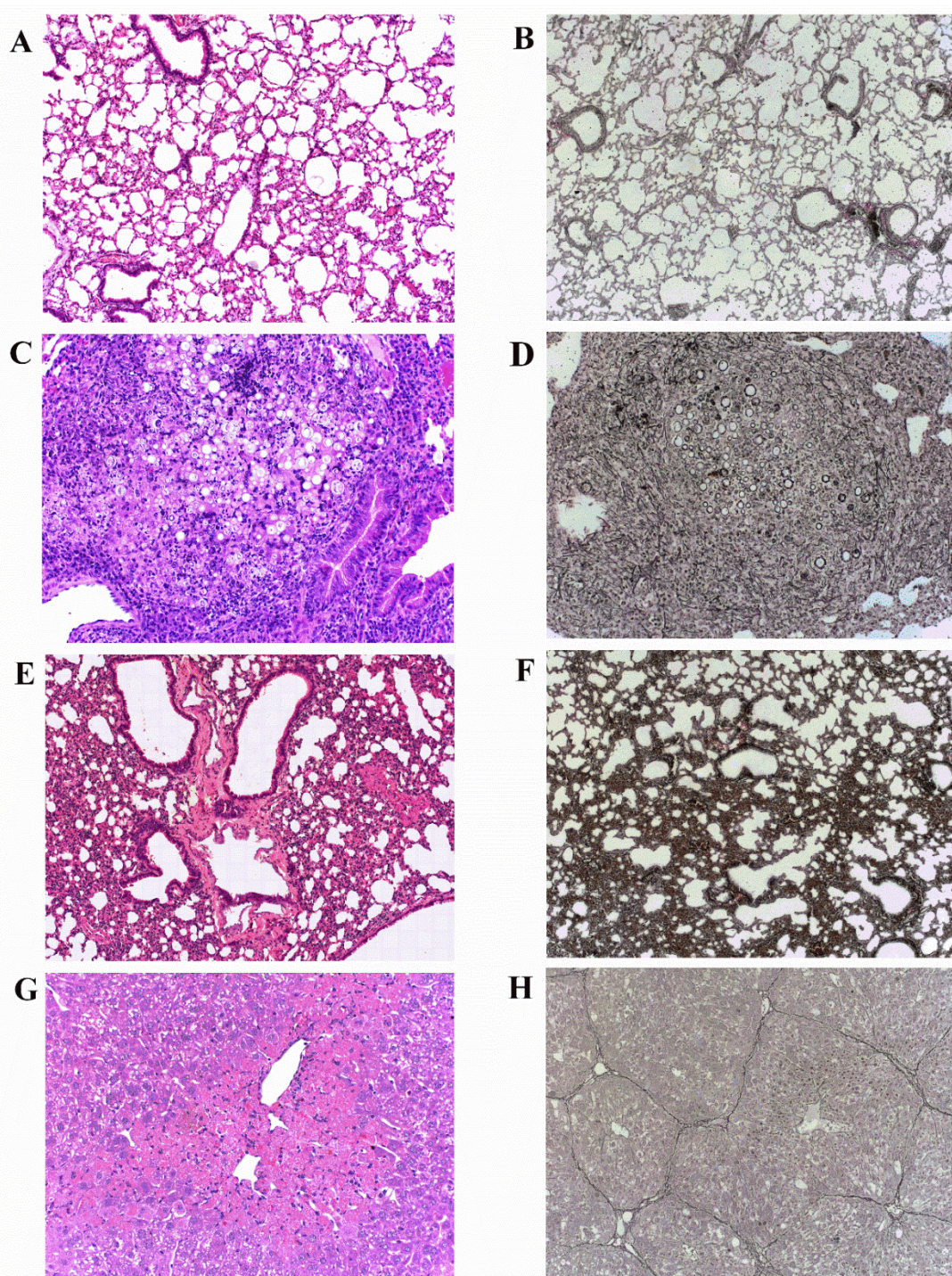


Figura 4. Análise histopatológica dos tecidos fibróticos de camundongos dos modelos experimentais de fibrose pulmonar induzida por *P. brasiliensis*, bleomicina e fibrose hepática induzida por CCl_4 A e B: Imagem de pulmões saudáveis de camundongos do grupo controle; C e D: Pulmão de camundongos BALB/c após 8 semanas da inoculação intra-traqueal de *P. brasiliensis* (grupo FP-PCM); E e F: Pulmão de camundongos BALB/c injetados intraperitonealmente com bleomicina (BLM) nos dias 1,8, e 15 e avaliados no dia 28 (grupo FP-BLM); G e H: Fígado de camundongos C57Bl/6 após seis semanas de injeções de tetracloreto de carbono (grupo FH). As alterações histopatológicas foram demonstradas por coloração Hematoxilina e eosina (A, C, E e G) e reticulina de Gomori (B, D, F e G). (objetiva de 20×).

5.2 Perfil global do proteoma pulmonar e hepático de camundongos dos grupos FP-PCM, FP-BLM e FH.

Para compreender os mecanismos moleculares envolvidos na infecção por *P. brasiliensis*, foi realizada análise proteômica das proteínas extraídas dos pulmões de camundongos BALB/c comparando a expressão das proteínas de camundongos infectados com *P. brasiliensis* oito semanas após a infecção (grupo FP-PCM) com o grupo controle (grupo CTRL). O total de 666 proteínas foi identificado no grupo infectado, enquanto 728 proteínas foram identificadas no grupo controle. O número total de proteínas únicas e comuns de cada grupo analisado está apresentado na figura 5. As proteínas que foram únicas, 3 vezes mais ou 0,5 vezes menos expressas no grupo FP-PCM quando comparado com o grupo CTRL estão listadas na Tabela 1. O apêndice 2 contém a todas as proteínas diferencialmente expressas no grupo FP-PCM.

Tabela 1. Proteínas com expressões significativamente alteradas em pulmões fibróticos de camundongos BALB/c após oito semanas de infecção por *P. brasiliensis* (grupo FP-PCM) em relação a pulmões saudáveis (grupo controle- CTRL).

^a Access Number	Protein name	PLGS score	^b Ratio FP-PCM:Ctrl
P06467	Hemoglobin subunit zeta	98	40.85
O08807	Peroxiredoxin-4	623	14.3
Q64467	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase_ testis-specific	64	7.85
P35700	Peroxiredoxin-1	1592	7.77
P05063	Fructose-bisphosphate aldolase C	189	4.9
P17183	Gamma-enolase	270	4.85
P18242	Cathepsin D	343	4.81
P08905	Lysozyme C-2	75	4.76
P10107	Annexin A1	114	4.31
P52480	Pyruvate kinase PKM	625	4.31
P16858	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	1835	3.9
P53657	Pyruvate kinase PKLR	38	3.9
P34884	Macrophage migration inhibitory factor	463	3.82
Q61233	Plastin-2	355	3.74
P17182	Alpha-enolase	1042	3.63
O35711	Liprin-beta-2	441	3.53
P11531	Dystrophin	66	3.49
P21550	Beta-enolase	36	3.42
Q9DBJ1	Phosphoglycerate mutase 1	235	3.25
P51150	Ras-related protein Rab-7a	249	3.22
Q60930	Voltage-dependent anion-selective channel protein 2	124	3.06
P99029	Peroxiredoxin-5_ mitochondrial	171	3
Q80TF6	StAR-related lipid transfer protein 9	64	0.11
Q04857	Collagen alpha-1(VI) chain	120	0.23
E9Q3L2	Phosphatidylinositol 4-kinase alpha	86	0.25
Q9DCN2	NADH-cytochrome b5 reductase 3	229	0.29
Q62151	Advanced glycosylation end product-specific receptor	5682	0.3
P08074	Carbonyl reductase [NADPH] 2	22259	0.31
O35945	Aldehyde dehydrogenase_ cytosolic 1	1632	0.33
Q8BH64	EH domain-containing protein 2	846	0.33
P24549	Retinal dehydrogenase 1	1977	0.35
Q08481	Platelet endothelial cell adhesion molecule	91	0.35
P33267	Cytochrome P450 2F2	161	0.35
Q62148	Retinal dehydrogenase 2	146	0.36
Q9JHW9	Aldehyde dehydrogenase family 1 member A3	146	0.36
Q9CZS1	Aldehyde dehydrogenase X_ mitochondrial	146	0.38
O54724	Caveolae-associated protein 1	537	0.39
P16546	Spectrin alpha chain_ non-erythrocytic 1	131	0.39
P20801	Troponin C_ skeletal muscle	110	0.41

(Continuação)

^a Access Number	Protein name	PLGS score	^b Ratio FP-PCM:Ctrl
Q8VCT4	Carboxylesterase 1D	737	0.42
Q9DCT8	Cysteine-rich protein 2	3703	0.43
P54071	Isocitrate dehydrogenase [NADP]_ mitochondrial	89	0.44
Q91WU0	Carboxylesterase 1F	88	0.45
Q02257	Junction plakoglobin	124	0.45
P48678	Prelamin-A/C	712	0.45
P10493	Nidogen-1	95	0.45
Q08857	Platelet glycoprotein 4	321	0.45
Q6URW6	Myosin-14	291	0.46
P17563	Selenium-binding protein 1	3743	0.47
Q9R1Q8	Transgelin-3	87	0.48
O08553	Dihydropyrimidinase-related protein 2	1727	0.48
Q64727	Vinculin	773	0.48
E9Q555	E3 ubiquitin-protein ligase RNF213	81	0.49
Q02788	Collagen alpha-2(VI) chain	39	0.5
P09542	Myosin light chain 3	124	0.5
Q63836	Selenium-binding protein 2	3713	0.5
P26231	Catenin alpha-1	43	0.5
P23953	Carboxylesterase 1C	70	0.5
P10649	Glutathione S-transferase Mu 1	4035	0.5
P05977	Myosin light chain 1/3_ skeletal muscle isoform	61	0.5
Q9DCT1	1_5-anhydro-D-fructose reductase	41	FP-PCM*
Q8BJY1	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 5	91	FP-PCM
P63323	40S ribosomal protein S12	216	FP-PCM
P63276	40S ribosomal protein S17	248	FP-PCM
P62082	40S ribosomal protein S7	297	FP-PCM
Q9JLJ2	4-trimethylaminobutyraldehyde dehydrogenase	74	FP-PCM
P99027	60S acidic ribosomal protein P2	264	FP-PCM
Q9DCD0	6-phosphogluconate dehydrogenase_ decarboxylating	83	FP-PCM
Q9CQ60	6-phosphogluconolactonase	558	FP-PCM
E9Q4Z2	Acetyl-CoA carboxylase 2	32	FP-PCM
Q9EST5	Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member B	130	FP-PCM
P61161	Actin-related protein 2	359	FP-PCM
Q9JM76	Actin-related protein 2/3 complex subunit 3	454	FP-PCM
P59999	Actin-related protein 2/3 complex subunit 4	428	FP-PCM
Q641P0	Actin-related protein 3B	63	FP-PCM
Q80US4	Actin-related protein 5	105	FP-PCM
Q3UNX5	Acyl-coenzyme A synthetase ACSM3_ mitochondrial	71	FP-PCM
Q61315	Adenomatous polyposis coli protein	55	FP-PCM
P84078	ADP-ribosylation factor 1	776	FP-PCM

(Continuação)

^a Access Number	Protein name	PLGS score	^b Ratio FP-PCM:Ctrl
Q8BSL7	ADP-ribosylation factor 2	776	FP-PCM
P61205	ADP-ribosylation factor 3	776	FP-PCM
P61750	ADP-ribosylation factor 4	776	FP-PCM
P84084	ADP-ribosylation factor 5	776	FP-PCM
Q8JZQ2	AFG3-like protein 2	58	FP-PCM
Q9JII6	Alcohol dehydrogenase [NADP(+)]	74	FP-PCM
P28474	Alcohol dehydrogenase class-3	477	FP-PCM
Q8VC28	Aldo-keto reductase family 1 member C13	87	FP-PCM
Q8K2H4	Arf-GAP with coiled-coil_ ANK repeat and PH domain-containing protein 1	76	FP-PCM
Q61176	Arginase-1	114	FP-PCM
P16460	Argininosuccinate synthase	188	FP-PCM
A2AU72	Armadillo repeat-containing protein 3	53	FP-PCM
O88738	Baculoviral IAP repeat-containing protein 6	18	FP-PCM
P01887	Beta-2-microglobulin	519	FP-PCM
O08524	Beta-tectorin	109	FP-PCM
P48754	Breast cancer type 1 susceptibility protein homolog	123	FP-PCM
P97929	Breast cancer type 2 susceptibility protein homolog	32	FP-PCM
Q6AZB0	Brother of CDO	55	FP-PCM
Q922D8	C-1-tetrahydrofolate synthase_ cytoplasmic	70	FP-PCM
O35350	Calpain-1 catalytic subunit	52	FP-PCM
O89084	cAMP-specific 3'_5'-cyclic phosphodiesterase 4A	52	FP-PCM
Q8C196	Carbamoyl-phosphate synthase [ammonia]_ mitochondrial	107	FP-PCM
O70370	Cathepsin S	730	FP-PCM
Q9WUU7	Cathepsin Z	149	FP-PCM
Q9Z0H0	Cell division cycle 7-related protein kinase	172	FP-PCM
Q9CZW2	Centromere protein N	59	FP-PCM
Q6RT24	Centromere-associated protein E	42	FP-PCM
Q5DU05	Centrosomal protein of 164 kDa	20	FP-PCM
Q6A065	Centrosomal protein of 170 kDa	283	FP-PCM
Q9CZX2	Centrosomal protein of 89 kDa	104	FP-PCM
Q8CG03	cGMP-specific 3'_5'-cyclic phosphodiesterase	33	FP-PCM
Q9Z1Q5	Chloride intracellular channel protein 1	215	FP-PCM
P79568	Class Ib MHC antigen Qa-2	262	FP-PCM
Q9CQI6	Coactosin-like protein	341	FP-PCM
Q8CIE6	Coatomer subunit alpha	31	FP-PCM
Q9JIF7	Coatomer subunit beta	66	FP-PCM
O55029	Coatomer subunit beta'	49	FP-PCM
Q8BVF4	Coiled-coil domain-containing protein 30	31	FP-PCM
Q60847	Collagen alpha-1(XII) chain	53	FP-PCM
Q923P0	Collagen alpha-1(XX) chain	56	FP-PCM
P01027	Complement C3	64	FP-PCM

(Continuação)

^a Access Number	Protein name	PLGS score	^b Ratio FP-PCM:Ctrl
O08997	Copper transport protein ATOX1	1386	FP-PCM
O89053	Coronin-1A	1092	FP-PCM
Q91X84	CREB-regulated transcription coactivator 3	44	FP-PCM
Q91WA4	CXXC-type zinc finger protein 5	39	FP-PCM
Q99KY4	Cyclin-G-associated kinase	194	FP-PCM
P12787	Cytochrome c oxidase subunit 5A_ mitochondrial	321	FP-PCM
O08967	Cytohesin-3	95	FP-PCM
Q9CPY7	Cytosol aminopeptidase	122	FP-PCM
Q8BX80	Cytosolic endo-beta-N-acetylglucosaminidase	70	FP-PCM
Q9D1A2	Cytosolic non-specific dipeptidase	264	FP-PCM
Q80XN0	D-beta-hydroxybutyrate dehydrogenase_ mitochondrial	78	FP-PCM
Q8BZN6	Dedicator of cytokinesis protein 10	58	FP-PCM
Q60710	Deoxynucleoside triphosphate triphosphohydrolase SAMHD1	113	FP-PCM
Q6P5E8	Diacylglycerol kinase theta	83	FP-PCM
Q8CFD5	DNA excision repair protein ERCC-8	206	FP-PCM
P49717	DNA replication licensing factor MCM4	43	FP-PCM
Q9DBG6	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 2	115	FP-PCM
Q8BYH0	Dorsal root ganglia homeobox protein	90	FP-PCM
Q4VA61	Down syndrome cell adhesion molecule-like protein 1 homolog	66	FP-PCM
Q4U2R1	E3 ubiquitin-protein ligase HERC2	269	FP-PCM
Q8C669	E3 ubiquitin-protein ligase pellino homolog 1	95	FP-PCM
O88196	E3 ubiquitin-protein ligase TTC3	177	FP-PCM
Q3UVK0	Endoplasmic reticulum metalloproteinase 1	59	FP-PCM
Q9D1Q6	Endoplasmic reticulum resident protein 44	111	FP-PCM
P49290	Eosinophil peroxidase	57	FP-PCM
P42567	Epidermal growth factor receptor substrate 15	62	FP-PCM
Q9Z0J0	Epididymal secretory protein E1	471	FP-PCM
Q9QZ11	Exonuclease 1	228	FP-PCM
Q6P5F9	Exportin-1	40	FP-PCM
P47753	F-actin-capping protein subunit alpha-1	241	FP-PCM
Q05816	Fatty acid-binding protein_ epidermal	508	FP-PCM
P12710	Fatty acid-binding protein_ liver	634	FP-PCM
Q8K0E8	Fibrinogen beta chain	461	FP-PCM
Q8VCM7	Fibrinogen gamma chain	249	FP-PCM
A6PWD2	Forkhead-associated domain-containing protein 1	125	FP-PCM
P16110	Galectin-3	459	FP-PCM
Q8JZP9	GAS2-like protein 1	74	FP-PCM
Q9ESZ8	General transcription factor II-I	50	FP-PCM
Q99NI3	General transcription factor II-I repeat domain-containing protein 2	65	FP-PCM
P06745	Glucose-6-phosphate isomerase	156	FP-PCM

(Continuação)

^a Access Number	Protein name	PLGS score	^b Ratio FP-PCM:Ctrl
Q8BML9	Glutaminyl-tRNA synthetase	79	FP-PCM
P11352	Glutathione peroxidase 1	962	FP-PCM
Q64521	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase_ mitochondrial	62	FP-PCM
Q8VDU0	G-protein-signaling modulator 2	105	FP-PCM
P62827	GTP-binding nuclear protein Ran	178	FP-PCM
P06339	H-2 class I histocompatibility antigen_ D-37 alpha chain	64	FP-PCM
P01899	H-2 class I histocompatibility antigen_ D-B alpha chain	262	FP-PCM
P01900	H-2 class I histocompatibility antigen_ D-D alpha chain	289	FP-PCM
P14426	H-2 class I histocompatibility antigen_ D-K alpha chain	262	FP-PCM
P14427	H-2 class I histocompatibility antigen_ D-P alpha chain	124	FP-PCM
P01901	H-2 class I histocompatibility antigen_ K-B alpha chain	262	FP-PCM
P01902	H-2 class I histocompatibility antigen_ K-D alpha chain	88	FP-PCM
P04223	H-2 class I histocompatibility antigen_ K-K alpha chain	262	FP-PCM
P03991	H-2 class I histocompatibility antigen_ K-W28 alpha chain	262	FP-PCM
P01897	H-2 class I histocompatibility antigen_ L-D alpha chain	262	FP-PCM
P01898	H-2 class I histocompatibility antigen_ Q10 alpha chain	262	FP-PCM
P14429	H-2 class I histocompatibility antigen_ Q7 alpha chain	262	FP-PCM
P14430	H-2 class I histocompatibility antigen_ Q8 alpha chain	262	FP-PCM
P14432	H-2 class I histocompatibility antigen_ TLA(B) alpha chain	64	FP-PCM
P14483	H-2 class II histocompatibility antigen_ A beta chain	247	FP-PCM
P04228	H-2 class II histocompatibility antigen_ A-D alpha chain	340	FP-PCM
P01921	H-2 class II histocompatibility antigen_ A-D beta chain	246	FP-PCM
P06343	H-2 class II histocompatibility antigen_ A-K beta chain	51	FP-PCM
P06342	H-2 class II histocompatibility antigen_ A-Q beta chain	212	FP-PCM
P06345	H-2 class II histocompatibility antigen_ A-S beta chain	73	FP-PCM
P06344	H-2 class II histocompatibility antigen_ A-U beta chain	73	FP-PCM
P18469	H-2 class II histocompatibility antigen_ I-E beta chain	34	FP-PCM
Q61646	Haptoglobin	221	FP-PCM
Q61316	Heat shock 70 kDa protein 4	99	FP-PCM
Q99020	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A/B	58	FP-PCM
Q9Z130	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D-like	58	FP-PCM
Q3TRM8	Hexokinase-3	219	FP-PCM
Q8C2B3	Histone deacetylase 7	43	FP-PCM
P79457	Histone demethylase UTY	1072	FP-PCM
P10629	Homeobox protein Hox-C6	134	FP-PCM
P01878	Ig alpha chain C region	496	FP-PCM
P01868	Ig gamma-1 chain C region secreted form	2411	FP-PCM
P01869	Ig gamma-1 chain C region_ membrane-bound form	2411	FP-PCM
P01864	Ig gamma-2A chain C region secreted form	469	FP-PCM
P01863	Ig gamma-2A chain C region_ A allele	669	FP-PCM
P01865	Ig gamma-2A chain C region_ membrane-bound form	669	FP-PCM

(Continuação)

^a Access Number	Protein name	PLGS score	^b Ratio FP-PCM:Ctrl
P01867	Ig gamma-2B chain C region	789	FP-PCM
P06330	Ig heavy chain V region AC38 205.12	396	FP-PCM
P01757	Ig heavy chain V region J558	396	FP-PCM
P01756	Ig heavy chain V region MOPC 104E	396	FP-PCM
P01723	Ig lambda-1 chain V region	295	FP-PCM
P01727	Ig lambda-1 chain V region S43	295	FP-PCM
P01872	Ig mu chain C region	65	FP-PCM
Q9Z329	Inositol 1_4_5-trisphosphate receptor type 2	35	FP-PCM
B8JK39	Integrin alpha-9	53	FP-PCM
P11835	Integrin beta-2	75	FP-PCM
Q61098	Interleukin-18 receptor 1	81	FP-PCM
P24822	Intestinal-type alkaline phosphatase	85	FP-PCM
O88844	Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic	55	FP-PCM
Q69ZS8	Kazrin	100	FP-PCM
A2APT9	Kelch domain-containing protein 7A	42	FP-PCM
P28738	Kinesin heavy chain isoform 5C	32	FP-PCM
Q99PT9	Kinesin-like protein KIF19	81	FP-PCM
Q9QWT9	Kinesin-like protein KIFC1	47	FP-PCM
P08071	Lactotransferrin	230	FP-PCM
Q8R4U7	Leucine zipper protein 1	83	FP-PCM
Q9JHQ5	Leucine zipper transcription factor-like protein 1	132	FP-PCM
Q9D154	Leukocyte elastase inhibitor A	132	FP-PCM
Q61792	LIM and SH3 domain protein 1	257	FP-PCM
Q148V7	LisH domain and HEAT repeat-containing protein KIAA1468	106	FP-PCM
Q5SUF2	Luc7-like protein 3	215	FP-PCM
P17897	Lysozyme C-1	216	FP-PCM
P24452	Macrophage-capping protein	202	FP-PCM
Q8HWB0	Major histocompatibility complex class I-related gene protein	38	FP-PCM
P60755	MAM domain-containing glycosylphosphatidylinositol anchor protein 2	32	FP-PCM
Q3U435	Matrix metalloproteinase-25	39	FP-PCM
Q9D4I2	Meiosis inhibitor protein 1	137	FP-PCM
Q811U4	Mitofusin-1	116	FP-PCM
P28665	Murinoglobulin-1	120	FP-PCM
P28666	Murinoglobulin-2	30	FP-PCM
P11247	Myeloperoxidase	253	FP-PCM
Q66X03	NACHT_ LRR and PYD domains-containing protein 9A	38	FP-PCM
Q9JKF6	Nectin-1	130	FP-PCM
P11627	Neural cell adhesion molecule L1	111	FP-PCM
Q9CS84	Neurexin-1	94	FP-PCM
O09105	Neurogenic differentiation factor 4	63	FP-PCM
P11672	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin	217	FP-PCM
Q8VDK1	Nitrilase homolog 1	193	FP-PCM

(Continuação)

^a Access Number	Protein name	PLGS score	^b Ratio FP-PCM:Ctrl
Q3TL44	NLR family member X1	42	FP-PCM
Q6GQT9	Nodal modulator 1	45	FP-PCM
P09405	Nucleolin	51	FP-PCM
Q8R1N4	NudC domain-containing protein 3	180	FP-PCM
Q8BXR9	Oxysterol-binding protein-related protein 6	40	FP-PCM
Q8JZM7	Parafibromin	127	FP-PCM
Q0ZLH2	Pejvakin	118	FP-PCM
P24369	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B	105	FP-PCM
Q9R269	Periplakin	27	FP-PCM
Q8CHE4	PH domain leucine-rich repeat-containing protein phosphatase 1	28	FP-PCM
P40935	Phenylethanolamine N-methyltransferase	131	FP-PCM
Q69ZK0	Phosphatidylinositol 3_4_5-trisphosphate-dependent Rac exchanger 1 protein	56	FP-PCM
P53811	Phosphatidylinositol transfer protein beta isoform	112	FP-PCM
O70250	Phosphoglycerate mutase 2	88	FP-PCM
Q9CQJ2	PIH1 domain-containing protein 1	255	FP-PCM
G5E829	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 1	147	FP-PCM
Q9R0K7	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 2	147	FP-PCM
Q3V0K9	Plastin-1	85	FP-PCM
B2RPU2	Pleckstrin homology domain-containing family D member 1	52	FP-PCM
Q91W45	Polyadenylate-binding protein-interacting protein 2B	179	FP-PCM
Q61838	Pregnancy zone protein	81	FP-PCM
D3Z4R1	Probable ATP-dependent DNA helicase HFM1	67	FP-PCM
A2AKX3	Probable helicase senataxin	101	FP-PCM
Q5DTV4	Probable ribonuclease ZC3H12C	67	FP-PCM
P49935	Pro-cathepsin H	194	FP-PCM
Q61207	Prosaposin	204	FP-PCM
P97371	Proteasome activator complex subunit 1	210	FP-PCM
Q9Z2U1	Proteasome subunit alpha type-5	155	FP-PCM
Q9R144	Protein arginine N-methyltransferase 2	45	FP-PCM
Q8BS90	Protein aurora borealis	70	FP-PCM
P08003	Protein disulfide-isomerase A4	137	FP-PCM
Q3UHQ6	Protein dopey-2	29	FP-PCM
Q9DB52	Protein FAM122A	64	FP-PCM
A4Q9F1	Protein monoglycylase TTLL8	30	FP-PCM
Q99MR9	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 3A	34	FP-PCM
P50543	Protein S100-A11	140	FP-PCM
P27005	Protein S100-A8	10385	FP-PCM
P31725	Protein S100-A9	4214	FP-PCM
Q9QXN0	Protein Shroom3	87	FP-PCM
Q6ZPY2	Protein SMG5	43	FP-PCM
Q9CU24	Protein THEMIS3	66	FP-PCM
Q99PJ1	Protocadherin-15	37	FP-PCM

(Continuação)

^a Access Number	Protein name	PLGS score	^b Ratio FP-PCM:Ctrl
E9Q9D5	Rab-like protein 2A	85	FP-PCM
Q8CGE9	Regulator of G-protein signaling 12	97	FP-PCM
G3UYX5	Regulator of G-protein signaling 22	31	FP-PCM
Q61599	Rho GDP-dissociation inhibitor 2	1130	FP-PCM
Q8C5L7	RNA-binding protein 34	97	FP-PCM
E9PZQ0	Ryanodine receptor 1	48	FP-PCM
Q60988	SCL-interrupting locus protein homolog	71	FP-PCM
Q80X76	Serine protease inhibitor A3F	59	FP-PCM
P84104	Serine/arginine-rich splicing factor 3	629	FP-PCM
Q8BL97	Serine/arginine-rich splicing factor 7	46	FP-PCM
Q8CIN4	Serine/threonine-protein kinase PAK 2	55	FP-PCM
Q9Z1Z2	Serine-threonine kinase receptor-associated protein	44	FP-PCM
Q62087	Serum paraoxonase/lactonase 3	147	FP-PCM
Q9R0P3	S-formylglutathione hydrolase	809	FP-PCM
A2AAY5	SH3 and PX domain-containing protein 2B	49	FP-PCM
Q9JJU8	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein	299	FP-PCM
Q920G3	Sialic acid-binding Ig-like lectin 5	53	FP-PCM
P42225	Signal transducer and activator of transcription 1	216	FP-PCM
Q8C0T5	Signal-induced proliferation-associated 1-like protein 1	17	FP-PCM
G3X9J0	Signal-induced proliferation-associated 1-like protein 3	205	FP-PCM
Q8R0L1	Signal-transducing adaptor protein 2	512	FP-PCM
A2ADF7	Solute carrier family 25 member 34	91	FP-PCM
Q3UTJ2	Sorbin and SH3 domain-containing protein 2	200	FP-PCM
Q6P8X1	Sorting nexin-6	79	FP-PCM
Q8VIJ6	Splicing factor_ proline- and glutamine-rich	75	FP-PCM
Q9D5L7	SPRY domain-containing SOCS box protein 1	174	FP-PCM
Q6PDS3	Sterile alpha and TIR motif-containing protein 1	37	FP-PCM
Q62407	Striated muscle-specific serine/threonine-protein kinase	133	FP-PCM
Q920F6	Structural maintenance of chromosomes protein 1B	44	FP-PCM
Q9Z104	SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily E member 1-related	96	FP-PCM
Q3UHK6	Teneurin-4	21	FP-PCM
Q8C0S4	Tetratricopeptide repeat protein 21A	44	FP-PCM
A3KMP2	Tetratricopeptide repeat protein 38	189	FP-PCM
O08811	TFIIH basal transcription factor complex helicase XPD subunit	51	FP-PCM
Q9CQU0	Thioredoxin domain-containing protein 12	86	FP-PCM
P10639	Thioredoxin	251	FP-PCM
Q99MB1	Toll-like receptor 3	52	FP-PCM
Q93092	Transaldolase	64	FP-PCM
Q8R2M0	Transcription elongation factor A N-terminal and central domain-containing protein 2	112	FP-PCM

(Continuação)

^a Access Number	Protein name	PLGS score	^b Ratio FP-PCM:Ctrl
Q62311	Transcription initiation factor TFIID subunit 6	118	FP-PCM
Q9WTR1	Transient receptor potential cation channel subfamily V member 2	47	FP-PCM
Q80W04	Transmembrane and coiled-coil domains protein 2	67	FP-PCM
Q99P91	Transmembrane glycoprotein NMB	172	FP-PCM
Q922P8	Transmembrane protein 132A	60	FP-PCM
Q6P2B1	Transportin-3	660	FP-PCM
Q9JLT2	Trehalase	53	FP-PCM
Q64514	Tripeptidyl-peptidase 2	80	FP-PCM
Q9JHI2	tRNA-specific adenosine deaminase 1	48	FP-PCM
Q80TQ2	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase CYLD	46	FP-PCM
Q5DU14	Unconventional myosin-XVI	45	FP-PCM
P40336	Vacuolar protein sorting-associated protein 26A	116	FP-PCM
P62814	V-type proton ATPase subunit B ₁ brain isoform	247	FP-PCM
Q8CGF6	WD repeat-containing protein 47	53	FP-PCM
Q9R0G7	Zinc finger E-box-binding homeobox 2	167	FP-PCM
Q02525	Zinc finger protein 39	37	FP-PCM
Q80Y81	Zinc phosphodiesterase ELAC protein 2	46	FP-PCM

^a Identification is based on proteins ID from UniProt protein database. reviewed only (<http://www.uniprot.org>).

^b Proteins with expression significantly altered are organized according to the ratio.

* Indicates unique proteins in alphabetical order

Considerando que a diferença do padrão da expressão das proteínas entre o grupo infectado e o grupo saudável pode revelar as vias biológicas que estão alteradas durante a infecção por *P. brasiliensis*, as proteínas únicas, super- e sub expressas no grupo FP-PCM, foram submetidas, separadamente, para análise *in silico* de identificação de vias.

O mesmo processo foi feito para os grupos de modelo de FP e hepática (FP-BLM e FH) (Apêndice 2 e 3). A Tabela 2 mostra o número total de proteínas identificadas em cada grupo de fibrose, o número de proteínas com expressões alteradas em relação aos seus respectivos controles e ainda as vias enriquecidas por essas proteínas.

Tabela 2 . Análise de enriquecimento de vias das proteínas com expressão significativamente alteradas em cada grupo experimental (pulmões e fígados fibróticos) em comparação com seus respectivos controles (pulmões e fígado saudáveis).

Grupo experimental	Total proteínas identificadas	Proteínas sub-expressas	Proteínas super-expressas	Únicas no grupo com fibrose	Vias enriquecidas pelas proteínas sub-expressas	Vias enriquecidas pelas proteínas super-expressas	Vias enriquecidas pelas proteínas únicas
FP-PCM	666	104	191	281	Associação de vesículas de transporte de Golgi com microtúbulos	Modificação de proteínas pós-traducionais	Exocitose de proteínas do lúmen dos grânulos secretores
					Hidrólise do ATP pela miosina	Degranulação de neutrófilos	Exocitose de proteínas do lúmen dos grânulos ricos em ficolina
					A subunidade alfa da proteína G é inativada	RAB geranilgeranilação	Exocitose de proteínas específicas do lúmen dos grânulos
					Filamentos de queratina ligam complexos de adesão célula-célula	Fenótipo Secretor Associado à Senescência (SASP)	ARF ativa recruta coatômero para o Golgi
					Ligação de L1 com esteira F-actina	Glicólise	As vesículas de COPI retrógradadas ligam-se à cinesina e aos microtúbulos
					PAK2 fosforila a cadeia leve reguladora de miosina (MRLC)	Degranulação de plaquetas	Interação de Erp57 com MHC classe I

(Continuação)

Grupo experimental	Total proteínas identificadas	Proteínas sub-expressas	Proteínas super-expressas	Únicas no grupo com fibrose	Vias enriquecidas pelas proteínas sub-expressas	Vias enriquecidas pelas proteínas super-expressas	Vias enriquecidas pelas proteínas únicas
FP-PCM	666	104	191	281	ALDHs oxidam atRAL para atRA	Fase de atenuação	Extensão de pseudópodes por miosina-X de maneira dependente de PI3K
					Fosforilação de tirosina de CRMPs por Fes	Metilação de proteína	Interação de integrina alfaDbeta2 com fibrina
					Dimerização do procolágeno tipo VI	RHO GTPases ativam PAKs	Kazrin liga-se à periplacina
					Ativação de LARG por G alfa 12/13	Sinalização do receptor de TGF- β em EMT (transição epitelial para mesenquimal)	S100A8:S100A9 liga Zn ²⁺
FP-BLM	338	179	20	56	Efectoras RHO GTPase	Detoxificação das ROS	Glucagon-like Peptide-1 (GLP1) regula a secreção de insulina
					Resposta celular ao estresse	Eliminação de heme do plasma	Sinalização da Rap1

(Continuação)

Grupo experimental	Total proteínas identificadas	Proteínas sub-expressas	Proteínas super-expressas	Únicas no grupo com fibrose	Vias enriquecidas pelas proteínas sub-expressas	Vias enriquecidas pelas proteínas super-expressas	Vias enriquecidas pelas proteínas únicas
FP-BLM	338	179	20	56	Ciclo de chaperona HSP90 para receptores de hormônios esteróides (SHR) Ponto de verificação de danos ao DNA G2/M RHO GTPases ativam PAKs Metilação de proteínas Interações célula-matriz extracelular		Cooperação de PDCL (PhLP1) e TRiC/CCT no dobramento beta da proteína G
FH	1066	362	87	389	Metabolismo Metabolismo de aminoácidos e derivados	Sinalização por Rho GTPases Efetores RHO GTPase	Degranulação de neutrófilos Cascata RAF/MAP quinases

(Continuação)

Grupo experimental	Total proteínas identificadas	Proteínas sub-expressas	Proteínas super-expressas	Únicas no grupo com fibrose	Vias enriquecidas pelas proteínas sub-expressas	Vias enriquecidas pelas proteínas super-expressas	Vias enriquecidas pelas proteínas únicas
FH	1066	362	87	389	Metabolismo de lipídeos	RHO GTPases ativam IQGAPs	Decaimento Mediado Sem Sentido (NMD) independente do Complexo de Junção Exon (EJC)
					Oxidação biológica	Contração do músculo liso	
					O ciclo do ácido cítrico (TCA) e o transporte respiratório de elétrons	Sinalização direta mediada por EPHB	
					Metabolismo de ácidos graxos		
					Localização de proteínas		
					Importação de proteína peroxissomal		

(Continuação)

Grupo experimental	Total proteínas identificadas	Proteínas sub-expressas	Proteínas super-expressas	Únicas no grupo com fibrose	Vias enriquecidas pelas proteínas sub expressas	Vias enriquecidas pelas proteínas super expressas	Vias enriquecidas pelas proteínas únicas
FH	1066	362	87	389	Metabolismo do piruvato e ciclo do ácido cítrico (TCA) Gliconeogenese Beta-oxidação de ácidos graxos mitocondriais Desintoxicação de Espécies Reativas de Oxigênio Metabolismo do glioxilato e degradação da glicina Catabolismo de aminoácidos de cadeia ramificada		

* Todas as vias que foram estatisticamente significantes ($\kappa = 0,4$) estão listadas em ordem decrescente de acordo com o número de proteínas presente em cada uma delas. Análise de enriquecimento de vias foi realizada utilizando o software Cytoscape, usando o banco de dados REACTOME.

Enquanto no grupo FP-PCM e FH a maioria das proteínas identificadas nesses tecidos eram únicas para estes modelos, ou seja, ausente nos seus respectivos grupos controles, no grupo FP-BLM a maioria das proteínas estavam, sub expressas em relação ao grupo controle. No geral, no grupo FP-PCM, as vias enriquecidas pelas proteínas únicas ou super expressas estavam relacionadas com a resposta pró-inflamatória (resposta neutrofílica e expressão de complexo de histocompatibilidade maior -MHC de classe I) e resposta pró-fibrótica (reorganização do citoesqueleto, multiplicação, migração, e sobrevivência celular e síntese,) mediada pela sinalização do TGF- β e outros fatores de crescimento (tabela 1), Rho GTPases, e a via fosfoinosítídeo 3-quinases (PI3K)/ proteína quinase B (AKT) e a via glicolítica. A via PI3K/Akt, apesar de não ter sido indicada na tabela de enriquecimentos de vias, está representada pela presença de proteínas chaves no grupo FP-PCM: receptor do fator de crescimento epidérmico, fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP2) e fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato e seus produtos (tabela 1). As vias enriquecidas pelas proteínas sub expressas estavam relacionadas com o citoesqueleto, mais especificamente relacionadas com a diminuição da expressão de algumas proteínas características das epiteliais pulmonares durante a transição para o perfil mesenquimatoso (tabela 2).

O grupo FP-BLM exibiu um perfil de enriquecimento de vias diferentes daquelas observadas no grupo FP-PCM, apresentando a super expressão de proteínas envolvidas com o processo de fibrogênese, porém, relacionadas com a sinalização do glucagon e Rab1 que vão resultar em ativação da via mitótica Raf/MEK/ERK levando a proliferação e sobrevivência celular. O grupo FH exibiu um perfil de enriquecimento das vias mais similares daquelas observadas no grupo FP-PCM. As vias enriquecidas pelas proteínas únicas ou super expressas no grupo FH estavam relacionadas com a resposta pró-inflamatória também mediada por neutrófilos, e resposta pró-fibrótica como a reorganização do

citoesqueleto mediada também pela via das Rho-GTPases. Adicionalmente e diferentemente do grupo FP-PCM, outras vias que indicam o processo de fibrogênese na qual as proteínas estavam super expressas no grupo FH foram: contração do músculo liso (proteínas marcadoras da ativação de miofibroblastos), e cascata de sinalização RAF-MAP quinases que vão também resultar em ativação da via ERK.

5.3 Perfil do proteoma pulmonar de camundongos infectados com *P. brasiliensis* comparado aos camundongos dos grupos FP-BLM e FH.

Para identificar quais os processos pró-fibróticos que podem ser similares entre o grupo FP-PCM e os dois modelos de fibrose FP-BLM e FH, foi realizada separadamente a comparação entre o proteoma pulmonar de camundongos do grupo FP-PCM com o proteoma hepático do grupo FH e, com o proteoma pulmonar do grupo FP-BLM (Figura 5).

Das 343 proteínas em comuns entre os grupos FP-PCM e FH (Figura 5A), 78 apresentaram expressão similar (Tabela 3), 103 estavam super expressas no grupo FP-PCM quando comparadas ao grupo FH e 162 proteínas estavam sub expressas no grupo FP-PCM em relação ao grupo FH (Figura 5B). Em seguida, as proteínas com expressão similar entre os grupos FP-PCM e FH foram submetidas à análise de identificação de vias biológicas. Como apresentado na Figura 5C, as 78 proteínas pulmonares com expressão similar entre os dois grupos enriqueceram quatro vias intracelulares relacionadas com a contração do músculo esquelético, processo glicolítico, regulação genética pela P53 e a ativação de PKN pelas RHO GTPases.

Na comparação com o grupo FP-BLM, foi encontrado 258 proteínas pulmonares em comum (figura 5D), na qual 47 apresentaram expressão similar (Tabela 2), 166 estavam super expressas no grupo FP-PCM e 45 proteínas estavam sub expressas no grupo FP-PCM em

relação ao grupo FP-BLM (Figura 5E). As vias identificadas a partir das proteínas com expressão similar foram quebra do glicogênio, contração do músculo estriado e agrefagia (figura 5F), que assim como na comparação com o grupo FH, também estavam relacionadas com o processo de geração de energia celular e movimento do citoesqueleto.

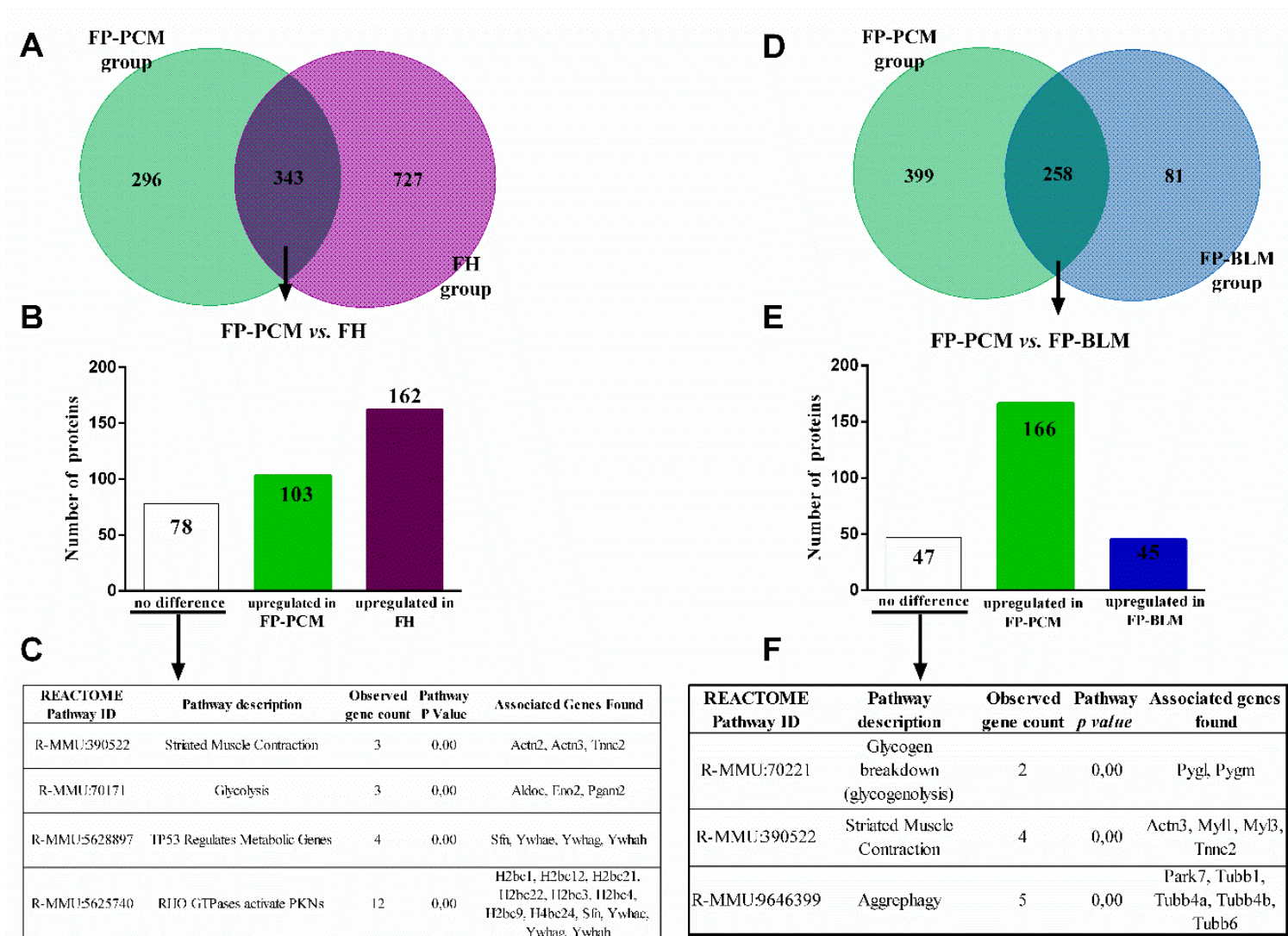


Figura 5. Perfil do proteoma pulmonar de camundongos infectados com *P. brasiliensis* comparado com modelo experimental de fibrose hepática (FH) fibrose pulmonar induzida por bleomicina (FP-BLM). A e D: O diagrama de Venn ilustra o número de proteínas comuns e únicas identificadas entre os grupos grupo FP-PCM vs. FH, e FP-PCM vs. FP-BLM respectivamente. B e E: Número de proteínas sub-, super-, e sem diferença de expressão no grupo FP-PCM em relação ao grupo FH e FP-BLM respectivamente. C e F: análise de enriquecimento de vias usando proteínas que apresentaram expressão semelhantes entre o grupo FP-PCM e FH e, FP-BLM respectivamente. Todas as vias que foram estatisticamente significantes estão listadas (kappa = 0,4). Análise de enriquecimento de vias foi realizada utilizando o software Cytoscape, usando o banco de dados REACTOME.

Tabela 3. Proteínas que apresentaram expressão similar em pulmões de camundongos infectados com *P. brasiliensis* (grupo FP-PCM) e fígado de camundongos com fibrose hepática (grupo FH)

^a Access Number	Protein name	PLGS score	^b p value FP-PCM:FH
P62259	14-3-3 protein epsilon	598	0,98
P68510	14-3-3 protein eta	561	1,16
P61982	14-3-3 protein gamma	883	1,11
O70456	14-3-3 protein sigma	561	1,19
P84078	ADP-ribosylation factor 1	666	1,01
Q8BSL7	ADP-ribosylation factor 2	666	1,04
P61205	ADP-ribosylation factor 3	666	0,90
P61750	ADP-ribosylation factor 4	586	0,90
P84084	ADP-ribosylation factor 5	810	0,96
E9Q394	A-kinase anchor protein 13	146	0,70
Q9JI91	Alpha-actinin-2	54	1,03
O88990	Alpha-actinin-3	42	0,50
Q99K67	Alpha-aminoadipic semialdehyde synthase_ mitochondrial	272	0,66
P14824	Annexin A6	229	0,99
P48754	Breast cancer type 1 susceptibility protein homolog	182	1,22
B2RQC6	CAD protein	28	0,62
Q9D6P8	Calmodulin-like protein 3	101	1,35
Q08091	Calponin-1	64	0,53
Q91WU0	Carboxylesterase 1F	174	0,81
Q5PR68	Centrosomal protein of 112 kDa	468	0,70
Q5DU05	Centrosomal protein of 164 kDa	71	0,76
Q80U49	Centrosomal protein of 170 kDa protein B	158	0,37
Q9CZX2	Centrosomal protein of 89 kDa	195	1,11
Q60952	Centrosome-associated protein CEP250	79	0,62
P02463	Collagen alpha-1(IV) chain	54	2,29
P01027	Complement C3	83	1,05
O08997	Copper transport protein ATOX1	406	0,61
Q99KY4	Cyclin-G-associated kinase	348	0,97
A2AF47	Dedicator of cytokinesis protein 11	204	0,84
Q8BW94	Dynein heavy chain 3_ axonemal	159	0,82
Q4U2R1	E3 ubiquitin-protein ligase HERC2	94	0,83
Q8K0E8	Fibrinogen beta chain	218	1,60
P05063	Fructose-bisphosphate aldolase C	736	1,20
P17183	Gamma-enolase	1564	1,08
Q8BML9	Glutaminyl-tRNA synthetase	227	2,69
Q8CI94	Glycogen phosphorylase_ brain form	711	0,99
Q9ET01	Glycogen phosphorylase_ liver form	559	0,99

(Continuação)

^a Access Number	Protein name	PLGS score	^b p value FP- PCM:FH
Q9WUB3	Glycogen phosphorylase_ muscle form	2579	0,99
P62827	GTP-binding nuclear protein Ran	1342	0,89
Q61316	Heat shock 70 kDa protein 4	107	0,62
Q9CQN1	Heat shock protein 75 kDa_ mitochondrial	573	0,91
Q9Z2X1	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein F	340	0,34
P61979	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K	486	1,04
Q8VEK3	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U	116	1,20
P70696	Histone H2B type 1-A	3109	1,02
Q64475	Histone H2B type 1-B	7371	0,99
Q6ZWY9	Histone H2B type 1-C/E/G	7371	0,99
P10853	Histone H2B type 1-F/J/L	7371	0,98
Q64478	Histone H2B type 1-H	7371	0,98
Q8CGP1	Histone H2B type 1-K	7371	0,98
Q8CGP2	Histone H2B type 1-P	7371	0,98
Q64524	Histone H2B type 2-E	4769	1,01
Q9D2U9	Histone H2B type 3-A	4769	1,00
Q8CGP0	Histone H2B type 3-B	4769	1,01
Q9Z2K1	Keratin_ type I cytoskeletal 16	277	0,79
Q61595	Kinectin	161	1,17
P33173	Kinesin-like protein KIF1A	554	0,83
Q61092	Laminin subunit gamma-2	101	0,95
Q61792	LIM and SH3 domain protein 1	1050	1,40
Q9EQK5	Major vault protein	105	0,82
P20357	Microtubule-associated protein 2	184	0,90
Q0II04	Nebulette	109	1,13
Q60974	Nuclear receptor corepressor 1	127	1,57
B9EJ86	Oxysterol-binding protein-related protein 8	58	1,45
P70296	Phosphatidylethanolamine-binding protein 1	307	0,99
O70250	Phosphoglycerate mutase 2	82	1,21
Q61838	Pregnancy zone protein	93	1,07
Q8CJG1	Protein argonaute-1	88	1,46
Q8BQN5	Protein FAM78B	283	0,47
Q6NXJ0	Protein WWC2	127	1,39
A2AAY5	SH3 and PX domain-containing protein 2B	122	0,41
Q62230	Sialoadhesin	117	1,28
P16546	Spectrin alpha chain_ non-erythrocytic 1	101	1,09
Q80TF6	StAR-related lipid transfer protein 9	83	0,56
Q71LX4	Talin-2	126	1,03
P20801	Troponin C_ skeletal muscle	108	1,46

(Continuação)

^a Access Number	Protein name	PLGS score	^b <i>p</i> value FP- PCM:FH
Q02053	Ubiquitin-like modifier-activatingenzym e1	78	0,9
Q8BX70	Vacuolar protein sorting-associated protein 13C	146	1,17

Tabela 4. Proteínas que apresentaram expressão similar em pulmões de camundongos infectados com *P. brasiliensis* (grupo FP-PCM) e camundongos com fibrose pulmonar induzida por Bleomicina (grupo FP-BLM).

^a Access Number	Protein name	PLGS score	^b p value FP-PCM: FP-BLM
A2AP18	1-phosphatidylinositol 4_5-bisphosphate phosphodiesterase eta-2	33	0.93
P63038	60 kDa heat shock protein_ mitochondrial	107	0.92
Q9JHW9	Aldehyde dehydrogenase family 1 member A3	43	0.05
O88990	Alpha-actinin-3	257	0.95
P14824	Annexin A6	137	0.88
P00920	Carbonic anhydrase 2	250	0.38
P97315	Cysteine and glycine-rich protein 1	575	0.07
Q60710	Deoxynucleoside triphosphate triphosphohydrolase SAMHD1	71	0.58
Q99LC5	Electron transfer flavoprotein subunit alpha_ mitochondrial	101	0.75
P13020	Gelsolin	120	0.79
P26443	Glutamate dehydrogenase 1_ mitochondrial	139	0.94
P48774	Glutathione S-transferase Mu 5	37	0.08
P19157	Glutathione S-transferase P 1	140	0.89
Q8CI94	Glycogen phosphorylase_ brain form	280	0.08
Q9ET01	Glycogen phosphorylase_ liver form	144	0.84
Q9WUB3	Glycogen phosphorylase_ muscle form	1171	0.69
P61979	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K	1163	0.92
P01872	Ig mu chain C region	99	0.54
O88844	Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic	64	0.82
Q9D3R6	Katanin p60 ATPase-containing subunit A-like 2	116	0.83
P05784	Keratin_ type I cytoskeletal 18	38	0.14
Q9DCV7	Keratin_ type II cytoskeletal 7	120	0.94
P02468	Laminin subunit gamma-1	30	0.07
Q61792	LIM and SH3 domain protein 1	293	0.87
P51174	Long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase_ mitochondrial	59	0.66
P28666	Murinoglobulin-2	52	0.86
P05977	Myosin light chain 1/3_ skeletal muscle isoform	162	0.54
P09542	Myosin light chain 3	162	0.60
Q60605	Myosin light polypeptide 6	4355	0.57
Q8CEE6	PAS domain-containing serine/threonine-protein kinase	62	0.94
O55103	Periactin	240	0.14
Q62009	Periostin	63	0.94
Q9QXS1	Plectin	68	0.59
Q99LX0	Protein DJ-1	701	0.93
P50396	Rab GDP dissociation inhibitor alpha	284	0.43
Q62148	Retinal dehydrogenase 2	43	0.10
Q99PT1	Rho GDP-dissociation inhibitor 1	1256	0.26
Q99J08	SEC14-like protein 2	208	0.39

(Continuação)

^a Access Number	Protein name	PLGS score	^b <i>p value</i> FP-PCM: FP-BLM
Q3UMC0	Spermatogenesis-associated protein 5	116	0.73
Q71LX4	Talin-2	29	0.63
Q9WVA4	Transgelin-2	1543	0.71
P20801	Troponin C_ skeletal muscle	238	0.62
A2AQ07	Tubulin beta-1 chain	60	0.9
Q9D6F9	Tubulin beta-4A chain	161	0.06
P68372	Tubulin beta-4B chain	136	0.28
Q922F4	Tubulin beta-6 chain	2491	0.51
Q62523	Zyxin	377	0.83

^a Identification is based on proteins ID from UniProt protein database. Reviewed only (<http://www.uniprot.org>).

^b Proteins without significant alteration in expression are organized in alphabetical order

5.4 Perfil proteômico comum entre pulmões de camundongos dos grupos FP-PCM ou FP-BLM e fígado de camundongos do grupo FH com fibrose induzida por tetracloreto de carbono.

Visando compreender quais as semelhanças e diferenças entre os três modelos de fibrose avaliados neste estudo em relação a alteração na expressão das proteínas envolvidas com as vias pró-fibróticas, nós primeiramente identificamos as proteínas em comum nos pulmões fibróticos de camundongos do grupo FP-PCM e FP-BLM com fígado fibrótico de camundongos do grupo FH, nós realizamos a identificação das vias em que essas proteínas faziam parte e posteriormente realizamos a análise da expressão dessas proteínas através do *heatmap*.

Como observado na figura 6, 355 proteínas em comum foram identificadas entre estes três grupos (Figura 6A), nas quais, enriqueceram 14 diferentes vias (Figura 6B). Essas proteínas foram distribuídas em suas respectivas vias enriquecidas e, através do *heatmap*, a expressão dessas proteínas em relação ao seu respectivo grupo controle foi determinada e estão apresentadas na Figura 7. Em geral, a análise do *heatmap* demonstrou que o padrão da expressão das proteínas em comum na maior parte das vias identificadas foi mais similar entre o grupo FP-PCM e FH do que entre o grupo FP-PCM e FP-BLM. A identificação de vias através da seleção de proteínas em comum entre três modelos de fibrose revelou importantes vias para o processo de fibrogênese do grupo FP-PCM como a sinalização de EMT através do receptor TGF-beta, proteínas de choque térmico 90 (HSP-90) e atividades da RHO GTPases, assim como a super expressão de proteínas chaves no processo da fibrogênese como vimentina, ubiquitinas e proteínas do choque-térmico

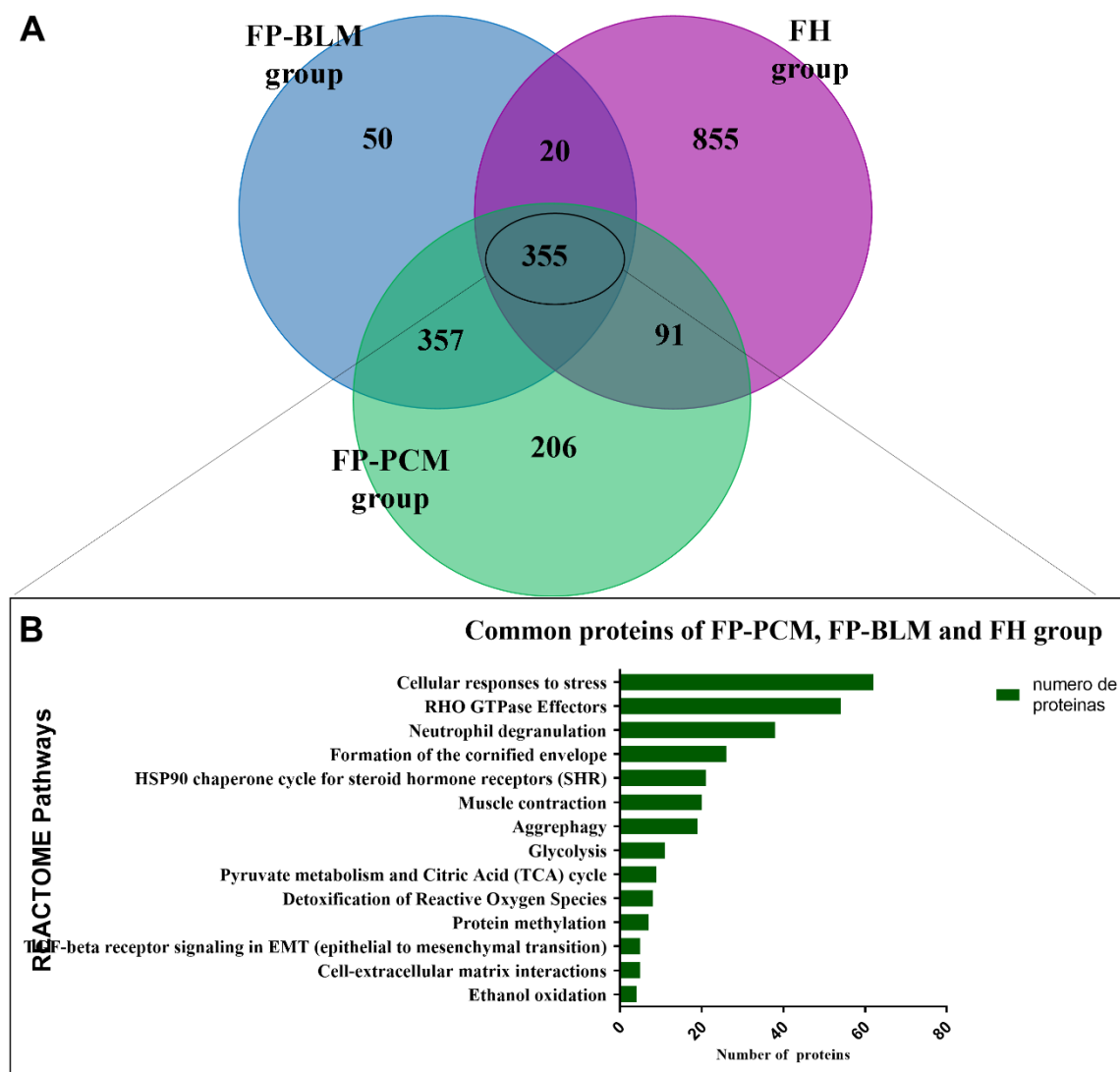


Figura 6. Perfil do proteoma de pulmão de camundongos infectados com *P. brasiliensis* (FP-PCM) comparado ao proteoma pulmonar de modelo experimental de fibrose induzida por bleomicina (FP-BLM) e ao proteoma hepático de modelo experimental de fibrose hepática (FH) induzida por tetracloreto de carbono (CCl_4). **A.** O diagrama de Venn ilustra o número de proteínas comuns e únicas identificadas entre o pulmão fibrótico de camundongos inoculados com 3 doses de bleomicina e avaliados após 14 dias da última dose (grupo FP-BLM), de camundongos BALB/c após 8 semanas de infecção por *P. brasiliensis* (grupo FP-PCM) e fígado fibrótico de camundongos C57BL/6 inoculados com tetracloreto de carbono (CCl_4) durante quatro semanas (grupo FH). **B.** Análise de enriquecimento de vias das proteínas pulmonares e hepáticas que foram comuns entre os grupos FP-PCM, FP-BLM e FH. Todas as vias que foram estatisticamente significantes estão listadas ($\kappa = 0,4$). Análise de enriquecimento de vias foi realizada utilizando o software Cytoscape, usando o banco de dados REACTOME.



Figura 7. Heatmap do padrão de expressão das proteínas em cada grupo experimental (pulmões e fígados fibróticos) em comparação com seus respectivos controles (pulmões e fígado saudáveis). Proteínas super expressas ($p > 0,95$) então representadas com a cor verde, proteínas sub expressas ($p < 0,05$) estão representadas com a cor vermelha e proteínas sem diferenças significativas entre os grupos são incolores. As proteínas estão distribuídas de acordo com suas respectivas vias biológicas (análise de enriquecimento de vias das proteínas pulmonares e hepáticas que foram comuns entre os grupos FP-PCM, FP-BLM e FH. Todos as vias que foram estatisticamente significantes estão listadas ($kappa = 0,4$). Análise de enriquecimento de vias foi realizada utilizando o software Cytoscape, usando o banco de dados REACTOME). A identificação de cada proteína está representada pelo nome do gene (uniprot.org). **Grupo FP-PCM:** camundongos BALB/c após 8 semanas de infecção por *P. brasiliensis*. **Grupo FP-BLM:** camundongos inoculados com 3 doses de BLM e avaliados após 14 dias da última dose (grupo FP-BLM). **Grupo CCL4:** camundongos C57BL/6 inoculados com tetracloreto de carbono (CCl_4) durante quatro semanas (grupo FH).

6. DISCUSSÃO

No presente estudo, observamos que em comparação com pulmões saudáveis, pulmões de camundongos BALB/c infectados com *P. brasiliensis* exibiram super expressão de proteínas envolvidas com os processos de degranulação de neutrófilos, sinalização do receptor de TGF- β em EMT, metilação de proteínas modificação de proteínas pós-traducionais, fenótipo Secretor Associado à Senescência, e degranulação plaquetária (Figura 8).

Através da análise do padrão de expressão das proteínas alteradas (*heatmap*) nos três modelos de fibrose estudados aqui, podemos perceber que a fibrogênese observada na PCM experimental apresentou maior similaridade com modelo de FH induzida por CCl₄. Através da comparação do proteoma pulmonar e hepático no modelo de FP da PCM e FH respectivamente, podemos sugerir que a super expressão de proteínas nas vias de resposta celular ao estresse, degranulação de neutrófilos, proteínas efetoras Rho GTPases e proteínas 90 de choque térmico e proteínas de contração muscular, estão relacionadas com a fibrogênese da PCM experimental (MURALIDHARAN; MANDREKAR, 2013; SIBINSKA et al., 2017; WYNN, 2008).

Enquanto que no modelo de FH a super expressão de proteínas relacionadas com a resposta celular ao estresse é indicação da resposta ao dano tecidual causado pelo tratamento crônico com o CCl₄ (WEBER; BOLL; STAMPFL, 2003), na PCM, o agente causador de estresse é a invasão do *P. brasiliensis* nas células epiteliais pulmonares. Sabe-se que após sua adesão e invasão nas células pulmonares, o *Paracoccidioides* se transloca para o citoplasma, se multiplica e induz apoptose celular (MENDES-GIANNINI et al., 2008). Esse processo colabora para o dano tecidual observado na PCM pulmonar, que assim como

observado na FH, resulta na ativação de sinalizações pró-fibróticas (FINE et al., 1997; HAGIMOTO et al., 1999).

Em resposta ao dano tecidual causado pelo CCl₄ ou pela infecção por *P. brasiliensis*, pode-se observar que nos dois modelos de fibrose, há uma extensa infiltração de neutrófilos (MIYAJI; NISHIMURA, 1983; RAMAIAH; JAESCHKE, 2007; SPERANDIO et al., 2015). Nossos resultados confirmam esse fato, já que observamos super expressão de proteínas relacionadas com a resposta neutrofílica nos modelos de FH e FP-PCM. Na FP, sabe-se que os neutrófilos colaboram para o dano tecidual através da excreção de ROS e serinas proteases levando a morte do hepatócito. Nos pulmões, foi observado que após a exposição a certo antígeno, inicia-se um influxo de neutrófilos e a persistência dessas células no tecido inibe o reparo tecidual equilibrado e resulta em fibrose crônica (DOVI; HE; DIPIETRO, 2003; MENEHIN; HOGABOAM, 2007; WETZLER et al., 2000). Já se sabe que o aumento de neutrófilos e seus produtos estão associados com a FP tanto em animais quanto em humanos (BW et al., 2007; CAILES et al., 1996; CHUA et al., 2007; HAYASHI et al., 1996; KELLY et al., 2006; OBAYASHI et al., 1997). Adicionalmente, o aumento do infiltrado neutrofílico tem sido associado ao aumento da mortalidade não apenas na FP mas também na FH (MOOKERJEE et al., 2007; TRITTO et al., 2011). Isto porque os neutrófilos são também uma fonte de fatores que crescimento que por sua vez ativam resposta de reparo tecidual com fibrose (CHUA et al., 2007; KAWABATA et al., 2000; WEISS, 1989). Estas evidências aliadas aos nossos resultados sugerem que os neutrófilos apresentam um papel importante na fibrogênese da PCM.

Em relação as GTPases, essas proteínas podem estar relacionadas com o processo de fibrogênese de várias formas, já que estão envolvidas em muitos processos biológicos celulares importantes, incluindo controle de crescimento celular, citocinese, motilidade

celular, adesão célula-célula e célula-ECM, transformação e invasão celular e desenvolvimento (GOVEK; NEWHEY; VAN AELST, 2005). O citoesqueleto de actina é um dos principais alvos das Rho GTPases, que atuam como interruptores moleculares em muitas vias de sinalizações. As Rho GTPases podem, portanto, regular a expressão gênica controlando a dinâmica da actina citoplasmática ou nuclear. Neste processo, a ligação do TGF- β ocasiona ativação das Rho GTPases, formação de fibra de estresse do tipo F-actina, redução da abundância de G-actina e, no núcleo celular, a exposição da localização da sequência de genes fator de transcrição-A relacionado à miocardina (MRTF), nas células em transformação. Isto permite a acumulação nuclear de MRTF que pode cooperar com fator de transcrição do fator de resposta sérica (SRF) e induzir expressão gênica. Diversos marcadores genéticos para MRTF/SRF são conhecidos como indutores de fibrose (CEN et al., 2003; HANNA et al., 2009; LUCHSINGER et al., 2011; MACK et al., 2001; SELVARAJ; PRYWES, 2004; TSOU et al., 2014) . Adicionalmente, a transcrição gênica mediada por SRF tem demonstrado ser essencial para a diferenciação de miofibroblastos (CHAI et al., 2007; SANDBO et al., 2009; YANG et al., 2003).

Um dos efetores da RHO GTPase mais bem estudados são as proteínas quinases ROCK1 e ROCK2, que fosforilam muitas proteínas envolvidas na estabilização de filamentos de actina e geração de força contrátil actina-miosina, como LIM quinases e cadeias leves reguladoras de miosina (RIENTO et al., 2003). A família de quinases ativadas por p21, que inclui proteína quinase serina/treonina (PAK)1, PAK2 e PAK3, é outra família bem caracterizada de efetores RHO GTPase envolvidos na regulação do citoesqueleto (DANIELS; BOKOCH, 1999). Em nosso estudo encontramos a super expressão tanto da LIM quinase quanto da proteína PAK 2 (tabela 2 e apêndice 2). Sabe-se que a sinalização induzida por p21 também está relacionada com atividades celulares anti-proliferativas pela

sua ação na inibição da continuação ciclo celular (TRIVEDI et al., 2005; WANG et al., 2015) fato que, inicialmente, pode parecer contraditório no contexto do ambiente proliferativo pró-fibrótico. Em contrapartida, devemos considerar que o ambiente pulmonar pró-fibrótico é dinâmico e caracterizado por um perfil celular diverso e atividades celulares específicas para cada perfil. Neste contexto, nossos resultados sugerem que enquanto muitas células estão ativando sinais de proliferação e transformação em fibroblastos, outras já estão transformadas e comprometidas com o perfil excretor (fig. 6). Considerando que para a excreção de produtos a célula necessita de movimento no citoesqueleto para o transporte de produtos até a membrana plasmática, a via das Rho -GTPases em particular, através da sinalização da p21 e das PAKs parece estar mais relacionada com as células do ambiente pró-fibrótico pulmonar comprometidas com a produção e excreção de MEC, citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento, em um perfil secretor associado a senescência (SCHAFER et al., 2017).

Outro importante grupo de proteínas que apresentaram expressão aumentada tanto no modelo de FP da PCM quanto no modelo de FH foram as HSP-90. No contexto da fibrogênese, sabe-se que as HSP-90 são proteínas envolvidas com atividades de chaperonas para receptores do TGF- β (BELLAYE et al., 2014), e também estabilizam a actina e a tubulina em resposta ao estresse. Em experimentos *in vitro*, foi visto que a inibição das HSP-90 inibiu totalmente a ativação do processo de EMT em células epiteliais pulmonares induzido pelo TGF- β e ainda, reduziu a proliferação de miofibroblastos através da indução de apoptose nessas células (BELLAYE et al., 2014). Sibinska e colaboradores (2017) demonstraram que há super expressão de HSP90 na FP experimental induzido por BLM. Foi visto nos pulmões desses camundongos que AEC hiperplásicas do tipo II estavam próximas a áreas de fibrose densa e expressavam altos níveis de HSP90 β em comparação com pulmões de controle. Os autores também mostraram pela primeira vez que a inibição de HSP90 pode

bloquear a ativação de fibroblastos e consequente melhora a FP induzida por FP-BLM em camundongos.

Uma das vias mais bem caracterizadas no processo de fibrogênese é a via da contração muscular, onde encontramos proteínas marcadoras citoesqueléticas que estão envolvidas com regulação do citoesqueleto durante a ativação de fibroblastos para o perfil pró-fibrótico (CLARK, 1996). Apesar desta via se encontrar ativada nos dois modelos de fibrose (FH e FP da PCM), nós observamos a super expressão de proteínas específicas para cada modelo. Diferentemente do grupo FH que apresentou super expressão α -SMA, nos dois modelos de FP (PCM e BLM) nós observamos a super expressão das actinas, calmodulinas e vimentina. Apesar da α -SMA ser um marcador universal de miofibroblastos ativados, sabe-se que fibroblastos clássicos expressam a vimentina (PARDO; SELMAN, 2002). Em um estudo com o objetivo de analisar e descrever diferentes marcadores citoesqueléticos, foi identificado quatro diferentes fenótipos fibroblastos: O tipo V que expressam apenas vimentina; o tipo VD que expressam vimentina e desmina; o tipo VA que expressam vimentina e α -SMA; e o tipo VAD que expressam vimentina, desmina e α -SMA (CLARK, 1996).

Interessantemente, a vimentina, que é uma proteína de citoesqueleto abundante em células de origem mesenquimal (LI et al., 2014), tem sido associada com um aumento da migração de células mesenquimais ativadas (SUROLIA et al., 2019). Neste contexto, nossos achados sugerem que enquanto as vias pró-fibróticas na FH está principalmente associada com a ativação de células HSC (GASULL et al., 2001), na PCM, as células mesenquimais parecem desempenhar um papel chave na sinalização pró-fibrótica pulmonar. Adicionalmente a essas evidências, alguns estudos têm demonstrado que a EMT contribui para a formação da população de fibroblastos pulmonares durante a indução de fibrose em

modelo experimental (KIM et al., 2006, 2009). Foi demonstrado que após duas semanas de uma dose única de BLM, aproximadamente um terço de fibroblastos pulmonares do tipo S100A4⁺ eram de linhagem epitelial e ainda que a metade dos fibroblastos S100A4⁺ tinham se diferenciado através da via EMT (TANJORE et al., 2009). Considerando o papel da via EMT no processo de FP induzido por BLM, e a super expressão de proteínas envolvidas com a via de sinalização do receptor de TGF- β induzindo a EMT no pulmão de camundongos infectados com *P. brasiliensis*, nós sugerimos que este processo tem um papel chave na fibrogênese da PCM.

Nossos resultados corroboram com os achados de Arango e colaboradores (2017), em uma tentativa de aplicar a BMMSCs para o tratamento da FP em modelo experimental murino de PCM. Os pesquisadores observaram que camundongos infectados com *P. brasiliensis* e tratados com BMMSCs apresentaram um aumento da FP caracterizada por aumento de fibrócitos, colágenos e expressão de genes para TGF- β 3 e metaloproteinases no pulmão. Considerando esses dados e as vias identificadas em nesse estudo, nós sugerimos que o papel da EMT na geração de fibrócitos na PCM seja melhor investigado.

Apesar do padrão do proteoma da FP da PCM experimental ter sido mais similar ao modelo de FH, nós notamos algumas semelhanças entre os dois modelos de FP estudados aqui (grupos FP-PCM e -BLM), principalmente a expressão de proteínas intracelulares relacionadas ao citoesqueleto como a actinina, miosinas, troponina e citoqueratinas. A alfa-actinina-3 (ACTN3), isoforma da cadeia leve 3 e 1/3 do músculo esquelético da miosina (MYL1 e MYL3) e troponina C-músculo esquelético (TN1) estão envolvidas com a ligação da actina durante a contração muscular (JOHNSTON; CHASE; PINTO, 2017; LODISH et al., 2000; MILLS et al., 2001). A super expressão da ACTN3 e da troponina C-músculo esquelético já foi observada na fibrose muscular esquelética (GARTON et al., 2018) e no

miocárdio (KAYA et al., 2008), respectivamente. A miosina, por sua vez, é conhecida por ter um papel importante na fibrogênese, pois está relacionada com a migração e diferenciação de fibroblastos. Foi demonstrado que o comportamento dos fibroblastos é impulsionado de uma maneira específica ao contexto através da ativação da miosina II, ou seja, ao encontrar a matriz rígida do pulmão fibrótico, a miosina é difusamente ativada nas fibras de estresse estendendo-se às adesões focais, resultando em aumento da tensão intracelular, imobilizando o fibroblasto e promovendo a diferenciação em miofibroblastos (SOUTHERN et al., 2016). Este mecanismo pode levar ao um acúmulo progressivo de miofibroblastos no pulmão fibrótico. Adicionalmente, sabe-se que a fosforilação da miosina de cadeia leve (MLC) está associada ao movimento contrátil de (mio)fibroblastos (TOMASEK et al., 2002) . De acordo com nossos achados, é possível que as cadeias pesadas da miosina do músculo liso possam definir melhor os fenótipos dos miofibroblastos diferenciados (CHIAVEGATO et al., 1995).

As queratinas possuem um papel importante na proteção contra sinais pro-apoptóticos nas células epiteliais do pulmão (JACOB et al., 2018). Além disso, a alteração da expressão dessas proteínas já foi associada não somente com a apoptose, mas também com a diferenciação, especialização de funcionalidade e alterações patológicas de células epiteliais (K et al., 1997) já a diminuição dessas proteínas podem indicar o processo de EMT (DONGRE; WEINBERG, 2019).

A análise do proteoma pulmonar de camundongos com FP causada pela PCM em comparação com o proteoma de pulmões e fígado dos modelos de fibrose estudados aqui, revelou mecanismos envolvidos com fibrogênese que são únicos e comuns para cada grupo. As aumento da expressão de proteínas envolvidas com as sinalizações iniciais do processo de fibrogênese como o dano tecidual e resposta inflamatória (resposta celular ao estresse, resposta neutrofílica, HSP-90 e RHO GTPases) foram comuns nos grupos FP-PCM e FH.

Por outro lado, proteínas envolvidas com a transição e atividade de fibroblastos apresentaram expressão comuns entre os grupos FP-PCM e FP-BLM. Uma diferença importante entre os grupos FP-PCM e os modelos de fibrose foi a super expressão de proteínas relacionadas com a via intracelular pró-fibrótica MAPK/ERK no grupo FP-BLM e FH, enquanto que no grupo FP-PCM observou-se a super expressão de proteínas envolvida com vias intracelulares relacionadas com o processo de EMT e via PI3K/AKT, interação de integrina com fibrina, proteína 57 do retículo endoplasmático (Erp57), e MHC de classe I, alteração da cinesina com microtúbulos e geranilgeranilação RAB.

Com exceção da via Erp57 e MHC de classe I que estão relacionadas com a resposta inflamatória, as vias PI3K/AKT, interação de integrina com fibrina, alteração da cinesina com microtúbulos e geranilgeranilação RAB estão envolvidas com o efeito da sinalização intracelular desencadeado pelo TGF- β . A ligação de fatores de crescimento em receptores celulares de tirosina quinase, pode resultar na ativação da via PI3K/AKT. Essa via se inicia na ativação da subunidade p110 da PI3K que, por sua vez, catalisa a conversão de PIP2 em fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato (PIP3) e recruta e ativa Akt. Esse processo vai resultar na ativação de mTOR através da regulação tanto da mTORC1, que é altamente dependente do RAS homólogo enriquecido no cérebro (Rheb), quanto da mTORC2, é altamente dependente da atividade de PI3K. Após a ativação, mTORC1 fosforila seus substratos como a proteína 1 de ligação do fator de iniciação de tradução eucariótica 4E, proteína ribossômica S6 quinase beta-1, proteína de ligação ao elemento regulador de esteróis e Unc-51 quinase ativadora de autofagia 1 que por sua vez vão induzir processos de síntese como a deposição de ECM, senescência, síntese de lipídios e iniciação da autofagia. Já a mTORC2, fosforila AKT, SGK1 e proteína quinase C (PKC) induzindo o crescimento celular, transporte de íons e rearranjo do citoesqueleto. (PLATÉ; GUILLOTIN; CHAMBERS, 2020).

Vários estudos vêm relacionando o papel da via PI3K/mTOR na sinalização TGF- β 1 em fibroblatos induzindo proliferação, diferenciação e produção de colágeno (WOODCOCK et al., 2019). Neste estudo foi encontrado a super expressão das proteínas PIP1 e PIP2, RAS, guanosinas trifosfato (tabela 1 e apêndice 2) em pulmões de camundongos com FP decorrente da PCM e também das proteínas envolvidas com a via anabólica, induzida pela ativação da PI3K-AKT- mTOR como a Acetil-CoA carboxilase e glicerol-3-fosfato desidrogenase, envolvidas com a síntese de lipídeos, e proteínas da via glicolítica, para produção de energia como a hexoquinase, glicose-6-fosfato, e fosfoglicerato mutase. Interessantemente, encontramos também neste grupo a super expressão da enzima fosfodiesterase 4A 3'_5'-cíclica específica de cAMP que degrada AMPc. Considerando que a AMPc ativa processos catabólicos através da ativação da proteína quinase A (PKA), que por sua vez, ativa síntese de enzimas do catabolismo através de fosforilação, a expressão do seu inibidor é mais um indicador da ativação dos processos de anabólicos (de síntese) e do papel da via mTOR nos pulmões fibróticos de camundongos com PCM.

Apesar das vias acima terem sido associadas com a infecção celular por *P. brasiliensis* em experimentos *in vitro* anteriormente (ANDREOTTI et al., 2005; DA SILVA et al., 2013; MAZA et al., 2008, 2012; MENDES-GIANNINI et al., 2004, 2006; MONTEIRO DA SILVA et al., 2007; PERES DA SILVA et al., 2011), é importante notar que, pelo nosso entendimento, é a primeira vez que a ativação dessas vias foram associadas ao modelo de infecção *in vivo*, bem como no contexto de FP. Por outro lado, outro estudo *in vitro* demonstrou recentemente que o contato do *P. brasiliensis* com AEC pode induzir a super regulação de microRNAs relacionados com as vias de sinalização TGF- β , MAPK, P53 e Wnt (SINGULANI et al., 2020). Como comentado anteriormente, neste estudo não foi identificado a super expressão de proteínas envolvidas com a via MAPK. Uma hipótese para

explicar essa diferença seria o longo período pós infecção avaliado aqui, comparado com as primeiras horas de contato com o *Paracoccidioides* e as células epiteliais durante estudo *in vitro*.

A partir dos dados proteômicos no presente estudo, algumas drogas anti-fibróticas com ações específicas nos seguintes processos/proteínas foram selecionadas: MCL20, HSP90, RHO GTPases, vimentinas, degranulação de neutrófilos, EMT e PI3K/AKT/ e alvo mamífero da rapamicina (mTOR). As drogas selecionadas, o mecanismo de ação e o órgão alvo e os modelos usados para demonstrar a eficácia então apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5. Estratégias selecionadas para o tratamento da fibrose pulmonar (FP) da paracoccidioidomicose (PCM) de acordo com proteínas e vias chaves.

Droga	Mecanismo de ação	Orgão	Modelo de fibrose	Descrição
Fasudil	Inibidor da Rho quinase	Pulmão	Modelo murino de FP induzida por BLM	O tratamento com Fasudil durante a fase pós-inflamatória da indução da FP protegeu camundongos do desenvolvimento da fibrose através da indução da apoptose de miofibroblastos (ZHOU et al., 2013).
Saracatinib	Inibidor da Src quinase	Pulmão/fígado	Modelo murino de FP induzida por BLM/ e FH induzida por CCl ₄	O tratamento com Saracatinib resultou em diminuição dos seguintes parâmetros em pulmão de camundongos tratados com BLM: 1. acúmulo de colágeno, 2. ativação da Src quinase, 3. expressão de α-SMA, 4. expressão de proteínas da ECM (HU et al., 2014). No fígado de camundongos com FH, o tratamento com Saracatinib reduziu a severidade da fibrose através da subregulação da Fyn (a membro das SFK), e consequentemente da sinalização da via Fyn/FAK/N-WASP o que preveniu a ativação das HSC (DU et al., 2020).

(Continuação)

Droga	Mecanismo de ação	Orgão	Modelo de fibrose	Descrição
Nintedanibe	Inibidor de receptores de tirosina quinase	Pulmão	Modelo murino de FP induzida por BLM	O tratamento com nintedanib reduziu a quimiotaxia de neutrófilos e consequentemente a gravidade da inflamação pulmonar e fibrose total. Este efeito foi associado a redução na expressão de CXCR2 e VLA-4 em neutrófilos e na expressão de VCAM-1 por células endoteliais.
17-DMAG (17-dimetilaminoetilamino-17-desmetoxigeldanamicina)	Inibidor da proteína Hsp-90	Pulmão/Pele	Modelo murino de fibrose dermal induzida por BLM	O tratamento com 17-DMAG exerceu um potente efeito anti-fibrótico na fibrose dermal através da diminuição dos seguintes parâmetros neste tecido: 1. espessura na pele, 2. quantidade de fibroblastos, 3. quantidade de hidroxiprolina. Adicionalmente, foi demonstrado que o tratamento com 17-DMAG em doses anti-fibróticas não foi tóxico para os camundongos (M et al., 2014).
17-N-allylamino-17-demethoxygeldanamycin (17-AAG)	Inibidor da atividade de ATPase da proteína Hsp-90	Pulmão	Modelo murino de FP induzida por TGF-β	O tratamento com 17-AAG diminuiu a ativação de fibroblastos em miofibroblastos através do bloqueio das sinalizações induzidas por TGF-β (SONTAKE et al., 2017).
(Continuação)				

Droga	Mecanismo de ação	Orgão	Modelo de fibrose	Descrição
AUY-922	Inibidor da proteína Hsp-90	Pulmão	Modelo experimental murino de FP induzida por HCl ou mostarda nitrogenada	O tratamento com AUY-922 reduziu os seguintes parâmetros relacionados com a fibrogênese: 1. concentrações de leucócitos e proteínas no líquido do lavado bronco alveolar, 2. inibiu a ativação de ERK e Hsp-90, 3. acúmulo de proteínas da matriz extracelular, 4. tecido fibrótico total (MARINOVA et al., 2020) (SOLOPOV et al., 2020).
1G6-D7	Anticorpo monoclonal anti- Hsp-90 α	Pulmão	Modelo murino de FP induzida por BLM	O tratamento com 1G6-D7 reduziu os seguintes parâmetros relacionados com a fibrogênese: 1. ativação de fibroblastos, 2. produção de ECM, 3. sinalização ERK (DONG et al., 2017).
Withaferin A (WFA)	Ligante da vimentina	Fibroblastos humanos	Cultura <i>in-vitro</i> de fibroblastos	O tratamento com WFA em fibroblastos <i>in-vitro</i> induziu a rápida reorganização dos ligamentos intermediários da vimentina. Essa reorganização foi dose dependente e acompanhada pela mudança no formato da célula e na diminuição da motilidade. Pequenas doses de WFA na induziu morte celular, mas induziu senescência (GRIN et al., 2012).

(Continuação)

Droga	Mecanismo de ação	Orgão	Modelo de fibrose	Descrição
Pirfenidona (PFD)	Inibidor da via EMT	Pulmão/rim	Modelo murino de FP induzida por BLM e fibroblastos pulmonares/Fibrose renal em um modelo de rato com obstrução ureteral unilateral (UUO)	No modelo de FP, o tratamento com PFD, inibiu a expressão da vimentina e da caderina e consequentemente bloqueio das vias de sinalização Wnt/GSK-3β/β-catenina e TGF-β1/Smad2/3 (LV et al., 2020). No modelo de UUO, o tratamento com a PFD reduziu o grau de lesão tubulointersticial e fibrose renal, através da redução da expressão de TGF-β1, colágeno tipo III, α-SMA, S100A4 e caderina (LI et al., 2017).
Metaciclina	Inibidor da via EMT	Pulmão	Modelo murino de FP induzida por BLM	O tratamento com metaciclina resultou em redução dos seguintes parâmetros fibróticos: 1. marcadores EMT canônicos (Snail1 e Twist1), 2. colágeno I, 3. fibronectina. Adicionalmente, a metaciclina não atenuou o acúmulo de células inflamatórias ou alterou os genes responsivos ao TGF-β1 em macrófagos alveolares (XI et al., 2014).
Paeoniflorina (PAE)	Inibidor da via de sinalização TGF- β 1/Smads	Fígado	Modelo murino de FH induzida por radiação	O tratamento com PAE resultou em diminuição da lesão hepática e da deposição de colágeno. (HU et al., 2018).

(Continuação)

Droga	Mecanismo de ação	Orgão	Modelo de fibrose	Descrição
Acebilustate	Inibidor da hidrolase de leucotrieno A4	Pulmão	Pacientes com fibrose cística leve a moderada	A contagem de neutrófilos no escarro foi reduzida em 65% em relação aos valores basais em pacientes tratados com 100 mg de acebilustate. Não foram observadas alterações na função pulmonar e o Acebilustat foi seguro e bem tolerado.(ELBORN et al., 2017).
Aminotiazol	Ligante de DC-SIGN mimetizador dos efeitos do amiloide sérico P (SAP)	Pulmão	Modelo murino de FP induzida por BLM	O tratamento com o aminotiazol resultou em redução do acúmulo de neutrófilos e aumento da IL-10 na fase aguda da inflamação pulmonar de camundongos (COX; PILLING; GOMER, 2015).
FAP-targeted PI3Ki	Inibição da atividade da PI3K	Pulmão	Cultura <i>in-vitro</i> de fibroblastos e modelo FP induzida por BLM.	Suprimiu a expressão de α -SMA, produção de hidroxiprolina e o depósito de colágeno(HETTIARACHCHI et al., 2020)..

A falta de validação dos resultados proteômicos com outros métodos que demonstrassem a relação da expressão diferencial das principais proteínas identificadas aqui com a FP da PCM é uma das principais limitações deste estudo. Adicionalmente, nós encontramos poucas proteínas em comum entre os dois modelos de FP estudados (FP-PCM e -BLM), o que vai contra os dados observados na literatura e discutidos aqui. Duas hipóteses podem justificar esse achado: a primeira é que em alguns autores vêm sugerindo que a FP induzida por BLM é independente da fase inflamatória crônica (PEÃO et al., 1994; SELMAN et al., 2001), sendo o oposto do observado no modelo de FP da PCM. Outra diferença relevante é que enquanto o modelo de FP mimetizado pela BLM vem do padrão obstrutivo observado na FPI, nosso modelo de FP da PCM apresenta padrão obstrutivo como observado na maioria dos pacientes com PCM pulmonar crônica. Outra hipótese é que o modelo de FP induzida por BLM representa o modelo experimental de FP mais comumente utilizado em múltiplas espécies como ratos, porcos da índia, hamsters, cachorros, primatas, camundongos, e ainda, para este último nós encontramos uma diversidade de linhagens e idade, vias (intraperitoneal, intra-traqueal e etc), dose e número de dias, quantidade de aplicações, além das variáveis de protocolos, cromatografia e espectrômetro de massas. Todos esses aspectos resultam em variação de resultados na literatura (TASHIRO et al., 2017).

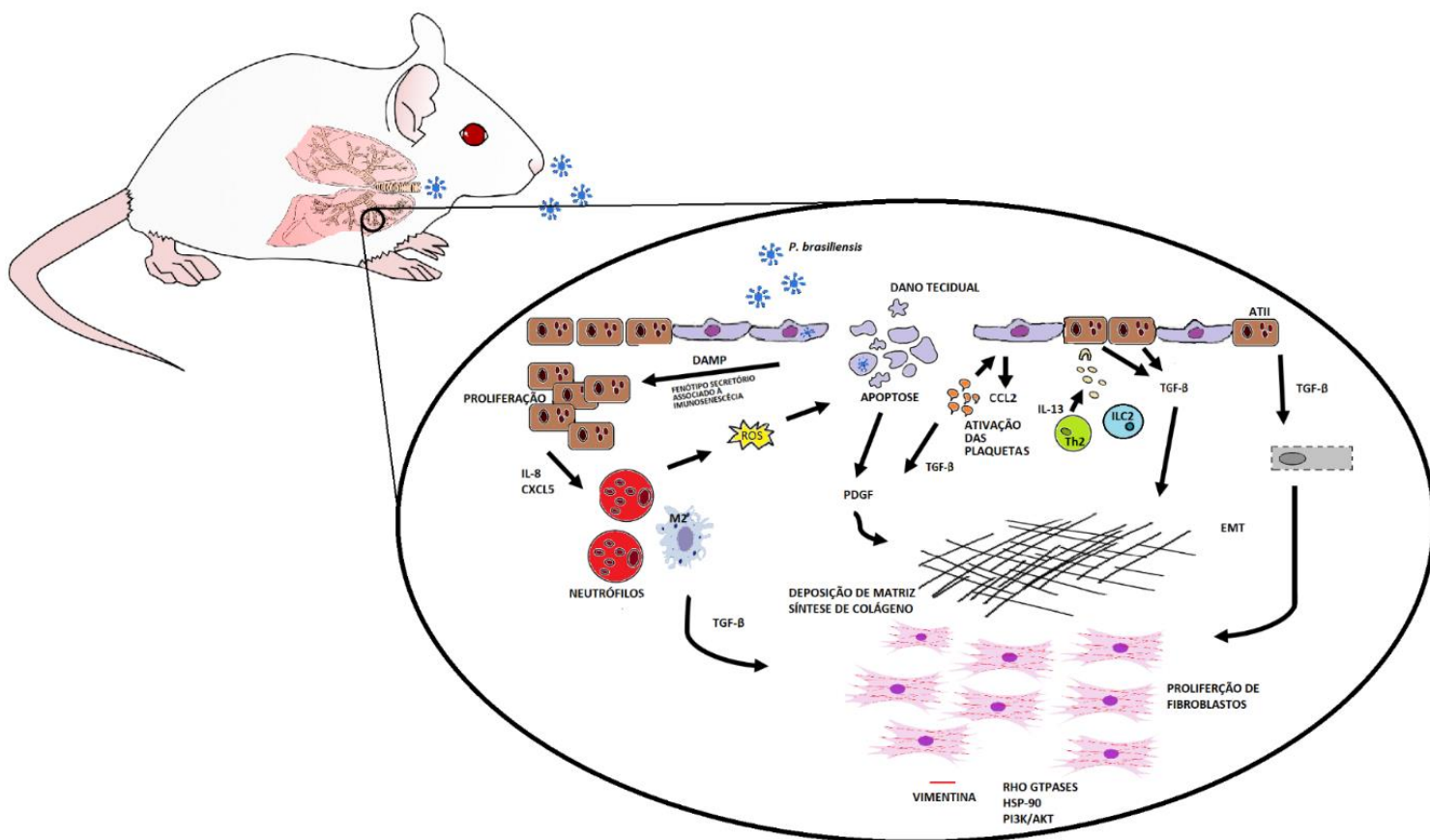


Figura 8. Vias dos processos envolvidos com a fibrogênese causada pela infecção por *P. brasiliensis* em modelo experimental murino. A análise das proteínas e vias encontrados nesse estudo juntamente com a revisão da literatura, sugerem que após a invasão do *P. brasiliensis* ao ambiente pulmonar observa-se apoptose e estresse das células epiteliais. Nesta situação, as células epiteliais entram em um estado de estresse chamado fenótipo secretor associado ao estado senescente como indução do fenótipo senescente. Neste fenótipo células epiteliais danificadas produzem citocinas, quimiocinas (ligante da quimiocina C-X-C motif - CXCL5 e ligante de quimiocina 2 -CCL2) e padrões moleculares associados ao perigo (DAMPs) que irão atrair células inflamatórias como neutrófilos e macrófagos (do tipo M2, perfil de reparo tecidual) e plaquetas para o local da injúria. As células inflamatórias contribuem para o processo crônico de dano e reparo pela secreção de TGF-β, IL-13 e espécies reativas de oxigênio (ROS), que vão resultar repetidos danos nas células epiteliais e induzir a super proliferação das mesmas, e ainda estimular o perfil de resposta de linfócitos do tipo *T-helper* 2 (Th2). O excesso de TGF-β também vai ocasionar a super regulação do processo de transição epitelial para mesenquimatosa (EMT), sobrevivência, proliferação e ativação de fibroblastos, produção de colágeno e depósito de ECM através da ativação de diversas vias como a das pequenas proteínas G sinalizadoras (RHO-GTPases), proteína de choque térmico - 90 (HSP-90) e via da proteína fosfoinositídeo 3-quinases (PI3K)/proteína quinase B (AKT) (Adaptado de CAMELO et al., 2014).

.

7. CONCLUSÕES

Usando a técnica nano-cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas de ionização por *eletrospray*, aliada a ferramentas de bioinformática, este estudo pode mostrar que o processo de fibrogênese observada na paracoccidioidomicose experimental é consequência do dano tecidual e da resposta inflamatória desencadeada pela infecção fúngica e degranulação de neutrófilos, que por sua vez, ativam a sinalização pró-fibrótica mediada por TGF- β e outros mediadores pró-fibróticos que vão induzir o processo de transição das células epiteliais para mesenquimatosas, ativação e migração de fibroblastos mediado pelas vias PI3K/AKT, Rho GTPases, proteínas de choque térmico 90, vimentina e proteínas ligadoras de actinas e a consequente progressão da fibrose. Adicionalmente, algumas proteínas e processos-chave foram identificados como alvos para drogas e alguns candidatos para o tratamento da fibrose pulmonar (FP) na paracoccidioidomicose foram aqui apresentados. Nossos achados colaboraram para o aumento do conhecimento no contexto da fibrogênese da paracoccidioidomicose experimental e forneceu uma base para guiar os futuros estudos para o tratamento anti-fibrótico em combinação com as terapias antifúngicas.

8. REFERÊNCIAS

- AFONSO, J. E. et al. [Pulmonary function in paracoccidioidomycosis (South American blastomycosis)]. **Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo**, v. 21, n. 6, p. 269–280, dez. 1979.
- AHMAD, A.; AHMAD, R. Understanding the Mechanism of Hepatic Fibrosis and Potential Therapeutic Approaches. **Saudi Journal of Gastroenterology : Official Journal of the Saudi Gastroenterology Association**, v. 18, n. 3, p. 155–167, 2012.
- ALMEIDA DONANZAM, D. DE F. et al. Exoantigens of Paracoccidioides spp. Promote Proliferation and Modulation of Human and Mouse Pulmonary Fibroblasts. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, 2020.
- ANDREOTTI, P. F. et al. Isolation and partial characterization of a 30 kDa adhesin from Paracoccidioides brasiliensis. **Microbes and Infection**, v. 7, n. 5–6, p. 875–881, maio 2005.
- ANTONIADES, H. N. et al. Platelet-derived growth factor in idiopathic pulmonary fibrosis. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 86, n. 4, p. 1055–1064, out. 1990.
- ARANGO, J. C. et al. Impaired anti-fibrotic effect of bone marrow-derived mesenchymal stem cell in a mouse model of pulmonary paracoccidioidomycosis. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 11, n. 10, p. e0006006, out. 2017.
- ARRUDA, M. S.; COELHO, K. I.; MONTENEGRO, M. R. Experimental paracoccidioidomycosis of hamster inoculated in the cheek pouch. **Mycopathologia**, v. 128, n. 2, p. 67–73, nov. 1994.
- BADR, G. et al. The Therapeutic Mechanisms of Propolis Against CCl₄ -Mediated Liver Injury by Mediating Apoptosis of Activated Hepatic Stellate Cells and Improving the Hepatic Architecture through PI3K/AKT/mTOR, TGF- β /Smad2, Bcl2/BAX/P53 and iNOS Signaling Pathways. **Cellular physiology and biochemistry**, v. 53, n. 2, p. 301–322, 1 jan. 2019.
- BARROS, B. C. S. C. et al. Paracoccidioides brasiliensis induces recruitment of α 3 and α 5 integrins into epithelial cell membrane rafts, leading to cytokine secretion. **Microbes and Infection**, v. 18, n. 1, p. 68–77, jan. 2016.
- BATAH, S. S. et al. Pulmonary paracoccidioidomycosis-induced pulmonary hypertension. **Clinical and Translational Medicine**, v. 10, n. 7, p. 213, nov. 2020.
- BELLAYE, P.-S. et al. Heat shock proteins in fibrosis and wound healing: Good or evil? **Pharmacology & Therapeutics**, v. 143, n. 2, p. 119–132, 1 ago. 2014.
- BENARD, G. An overview of the immunopathology of human paracoccidioidomycosis. **Mycopathologia**, v. 165, n. 4, p. 209–221, 1 abr. 2008.
- BENARD, G.; DUARTE, A. J. S. Paracoccidioidomycosis: A Model for Evaluation of the Effects of Human Immunodeficiency Virus Infection on the Natural History of Endemic Tropical Diseases. **Clinical Infectious Diseases**, v. 31, n. 4, p. 1032–1039, 1 out. 2000.
- BOROS, D. L. Immunopathology of Schistosoma mansoni infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 2, n. 3, p. 250–269, jul. 1989.

BW, K. et al. Baseline BAL neutrophilia predicts early mortality in idiopathic pulmonary fibrosis. **Chest**, v. 133, n. 1, p. 226–232, 10 dez. 2007.

CAILES, J. B. et al. Neutrophil activation in fibrosing alveolitis: a comparison of lone cryptogenic fibrosing alveolitis and systemic sclerosis. **The European Respiratory Journal**, v. 9, n. 5, p. 992–999, maio 1996.

CALICH, V. L. et al. Susceptibility and resistance of inbred mice to *Paracoccidioides brasiliensis*. **British Journal of Experimental Pathology**, v. 66, n. 5, p. 585–594, out. 1985.

CALVI, S. A. et al. Effect of cytokines on the in vitro fungicidal activity of monocytes from paracoccidioidomycosis patients. **Microbes and Infection / Institut Pasteur**, v. 5, n. 2, p. 107–113, fev. 2003.

CAMELO, A. et al. The epithelium in idiopathic pulmonary fibrosis: breaking the barrier. **Frontiers in Pharmacology**, v. 4, 2014.

CARMO, J. P. M. et al. TNF- α activates human monocytes for *Paracoccidioides brasiliensis* killing by an H₂O₂-dependent mechanism. **Medical Mycology**, v. 44, n. 4, p. 363–368, jun. 2006.

CAVALCANTE, R. DE S. et al. Comparison between Itraconazole and Cotrimoxazole in the Treatment of Paracoccidioidomycosis. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 4, p. e2793, 17 abr. 2014.

CEN, B. et al. Megakaryoblastic leukemia 1, a potent transcriptional coactivator for serum response factor (SRF), is required for serum induction of SRF target genes. **Molecular and Cellular Biology**, v. 23, n. 18, p. 6597–6608, set. 2003.

CHAI, J. et al. A critical role of serum response factor in myofibroblast differentiation during experimental oesophageal ulcer healing in rats. **Gut**, v. 56, n. 5, p. 621–630, maio 2007.

CHIAVEGATO, A. et al. Expression of myosin heavy chain isoforms in mammary epithelial cells and in myofibroblasts from different fibrotic settings during neoplasia. **Virchows Archiv**, v. 426, n. 1, p. 77–86, 1 fev. 1995.

CHUA, F. et al. Mice lacking neutrophil elastase are resistant to bleomycin-induced pulmonary fibrosis. **The American Journal of Pathology**, v. 170, n. 1, p. 65–74, jan. 2007.

CLARK, R. **The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair**. [s.l.] Springer Science & Business Media, 1996.

COCK, A. M. et al. Fibrotic sequelae in pulmonary paracoccidioidomycosis: histopathological aspects in BALB/c mice infected with viable and non-viable *Paracoccidioides brasiliensis* propagules. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 42, n. 2, p. 59–66, abr. 2000.

COLOMBO, A. L.; FAIÇAL, S.; KATER, C. E. Systematic evaluation of the adrenocortical function in patients with paracoccidioidomycosis. **Mycopathologia**, v. 127, n. 2, p. 89–93, ago. 1994.

COSTA, A. N. et al. The lung in paracoccidioidomycosis: new insights into old problems. **Clinics (Sao Paulo, Brazil)**, v. 68, n. 4, p. 441–448, abr. 2013.

- COX, N.; PILLING, D.; GOMER, R. H. DC-SIGN activation mediates the differential effects of SAP and CRP on the innate immune system and inhibits fibrosis in mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 27, p. 8385–8390, 7 jul. 2015.
- DA SILVA, J. DE F. et al. Paracoccidoides brasiliensis 30 kDa adhesin: identification as a 14-3-3 protein, cloning and subcellular localization in infection models. **PloS One**, v. 8, n. 4, p. e62533, 2013.
- DANIELS, R. H.; BOKOCH, G. M. p21-activated protein kinase: a crucial component of morphological signaling? **Trends in Biochemical Sciences**, v. 24, n. 9, p. 350–355, set. 1999.
- DE CAMARGO, Z. et al. Production of Paracoccidioides brasiliensis exoantigens for immunodiffusion tests. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 26, n. 10, p. 2147–2151, out. 1988.
- DE OLIVEIRA, H. C. et al. Paracoccidioides-host Interaction: An Overview on Recent Advances in the Paracoccidioidomycosis. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, 2015.
- DEFAVERI, J.; REZKALLAH-IWASSO, M. T.; DE FRANCO, M. F. Experimental pulmonary paracoccidioidomycosis in mice: morphology and correlation of lesions with humoral and cellular immune response. **Mycopathologia**, v. 77, n. 1, p. 3–11, 15 jan. 1982.
- DEGRYSE, A. L. et al. Repetitive intratracheal bleomycin models several features of idiopathic pulmonary fibrosis. **American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 299, n. 4, p. L442–L452, out. 2010.
- DEL NEGRO, G. et al. Limited adrenal reserve in paracoccidioidomycosis: cortisol and aldosterone responses to 1-24 ACTH. **Clinical Endocrinology**, v. 13, n. 6, p. 553–559, dez. 1980.
- DONG, H. et al. Blockade of extracellular heat shock protein 90 α by 1G6-D7 attenuates pulmonary fibrosis through inhibiting ERK signaling. **American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 313, n. 6, p. L1006–L1015, 1 dez. 2017.
- DONGRE, A.; WEINBERG, R. A. New insights into the mechanisms of epithelial-mesenchymal transition and implications for cancer. **Nature Reviews. Molecular Cell Biology**, v. 20, n. 2, p. 69–84, fev. 2019.
- DOS SANTOS, W. A. et al. [Association between smoking and paracoccidioidomycosis: a case-control study in the State of Espírito Santo, Brazil]. **Cadernos De Saude Publica**, v. 19, n. 1, p. 245–253, fev. 2003.
- DOVI, J. V.; HE, L.-K.; DIPIETRO, L. A. Accelerated wound closure in neutrophil-depleted mice. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 73, n. 4, p. 448–455, abr. 2003.
- DU, G. et al. Targeting Src family kinase member Fyn by Saracatinib attenuated liver fibrosis in vitro and in vivo. **Cell Death & Disease**, v. 11, n. 2, p. 1–12, 12 fev. 2020.
- DUNCAN, M. R.; BERMAN, B. Gamma interferon is the lymphokine and beta interferon the monokine responsible for inhibition of fibroblast collagen production and late but not early fibroblast proliferation. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 162, n. 2, p. 516–527, 1 ago. 1985.

- ELBORN, J. S. et al. Phase I Studies of Acebilustat: Biomarker Response and Safety in Patients with Cystic Fibrosis. **Clinical and Translational Science**, v. 10, n. 1, p. 28–34, 2017.
- FINATO, A. C. et al. Evaluation of antifibrotic and antifungal combined therapies in experimental pulmonary paracoccidioidomycosis. **Medical Mycology**, v. 58, n. 5, p. 667–678, 1 jul. 2020.
- FINE, A. et al. Fas expression in pulmonary alveolar type II cells. **The American Journal of Physiology**, v. 273, n. 1 Pt 1, p. L64–71, jul. 1997.
- FIORILLO, A. M.; MARTINEZ, R. [Nature of precipitating specific antibodies of paracoccidioidomycosis (South American blastomycosis) detected by counterimmunoelectrophoresis]. **Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo**, v. 26, n. 1, p. 25–30, fev. 1984.
- GARDIZANI, T. P. et al. 43 kDa Glycoprotein (gp43) from Paracoccidioides brasiliensis Induced IL-17A and PGE2 Production by Human Polymorphonuclear Neutrophils: Involvement of TLR2 and TLR4. **Journal of Immunology Research**, v. 2019, p. 1790908, 2019.
- GARTON, F. C. et al. The Effect of ACTN3 Gene Doping on Skeletal Muscle Performance. **American Journal of Human Genetics**, v. 102, n. 5, p. 845–857, 3 maio 2018.
- GASULL, X. et al. Human myofibroblastic hepatic stellate cells express Ca(2+)-activated K(+) channels that modulate the effects of endothelin-1 and nitric oxide. **Journal of Hepatology**, v. 35, n. 6, p. 739–748, dez. 2001.
- GHARAE-KERMANI, M. et al. The role of IL-5 in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 64, n. 5, p. 657–666, nov. 1998.
- GHARAE-KERMANI, M. et al. LUNG INTERLEUKIN-4 GENE EXPRESSION IN A MURINE MODEL OF BLEOMYCIN-INDUCED PULMONARY FIBROSIS. **Cytokine**, v. 15, n. 3, p. 138–147, 1 ago. 2001.
- GOVEK, E.-E.; NEWHEY, S. E.; VAN AELST, L. The role of the Rho GTPases in neuronal development. **Genes & Development**, v. 19, n. 1, p. 1–49, 1 jan. 2005.
- GRIN, B. et al. Withaferin A alters intermediate filament organization, cell shape and behavior. **PloS One**, v. 7, n. 6, p. e39065, 2012.
- GROTENDORST, G. R. Alteration of the chemotactic response of NIH/3T3 cells to PDGF by growth factors, transformation, and tumor promoters. **Cell**, v. 36, n. 2, p. 279–285, 1 fev. 1984.
- HAGIMOTO, N. et al. Induction of Interleukin-8 Secretion and Apoptosis in Bronchiolar Epithelial Cells by Fas Ligation. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 21, n. 3, p. 436–445, 1 set. 1999.
- HANNA, M. et al. Mechanical regulation of the proangiogenic factor CCN1/CYR61 gene requires the combined activities of MRTF-A and CREB-binding protein histone acetyltransferase. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 284, n. 34, p. 23125–23136, 21 ago. 2009.
- HARRISON, J. H.; LAZO, J. S. High dose continuous infusion of bleomycin in mice: a new model for drug-induced pulmonary fibrosis. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 243, n. 3, p. 1185–1194, dez. 1987.

- HASHIMOTO, S. et al. IL-4 and IL-13 induce myofibroblastic phenotype of human lung fibroblasts through c-Jun NH2-terminal kinase-dependent pathway. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 107, n. 6, p. 1001–1008, jun. 2001.
- HAY, J.; SHAHZEIDI, S.; LAURENT, G. Mechanisms of bleomycin-induced lung damage. **Archives of Toxicology**, v. 65, n. 2, p. 81–94, 1991.
- HAYASHI, T. et al. Immunohistochemical study of metalloproteinases and their tissue inhibitors in the lungs of patients with diffuse alveolar damage and idiopathic pulmonary fibrosis. **The American Journal of Pathology**, v. 149, n. 4, p. 1241–1256, out. 1996.
- HETTIARACHCHI, S. U. et al. Targeted inhibition of PI3 kinase/mTOR specifically in fibrotic lung fibroblasts suppresses pulmonary fibrosis in experimental models. **Science Translational Medicine**, v. 12, n. 567, p. eaay3724, 28 out. 2020.
- HU, M. et al. Therapeutic Targeting of Src Kinase in Myofibroblast Differentiation and Pulmonary Fibrosis. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 351, n. 1, p. 87–95, out. 2014.
- HU, Z. et al. Paeoniflorin exerts protective effect on radiation-induced hepatic fibrosis in rats via TGF- β 1/Smads signaling pathway. **American Journal of Translational Research**, v. 10, n. 3, p. 1012–1021, 15 mar. 2018.
- IABUKI, K.; MONTENEGRO, M. R. Experimental paracoccidioidomycosis in the Syrian hamster: morphology, ultrastructure and correlation of lesions with presence of specific antigens and serum levels of antibodies. **Mycopathologia**, v. 67, n. 3, p. 131–141, 16 jul. 1979.
- JACOB, J. T. et al. Types I and II Keratin Intermediate Filaments. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 10, n. 4, abr. 2018.
- JOHNSTON, J. R.; CHASE, P. B.; PINTO, J. R. Troponin through the looking-glass: emerging roles beyond regulation of striated muscle contraction. **Oncotarget**, v. 9, n. 1, p. 1461–1482, 4 dez. 2017.
- K, I. et al. Alterations in cytokeratin expression by the alveolar lining epithelial cells in lung tissues from patients with idiopathic pulmonary fibrosis. **The Journal of Pathology**, v. 182, n. 2, p. 217–224, 1 jun. 1997.
- KAPANCI, Y. et al. Cytoskeletal protein modulation in pulmonary alveolar myofibroblasts during idiopathic pulmonary fibrosis. Possible role of transforming growth factor beta and tumor necrosis factor alpha. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 152, n. 6 Pt 1, p. 2163–2169, dez. 1995.
- KARLMARK, K. R. et al. Hepatic recruitment of the inflammatory Gr1⁺ monocyte subset upon liver injury promotes hepatic fibrosis. **Hepatology**, v. 50, n. 1, p. 261–274, 2009.
- KAWABATA, K. et al. Delayed neutrophil elastase inhibition prevents subsequent progression of acute lung injury induced by endotoxin inhalation in hamsters. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 161, n. 6, p. 2013–2018, jun. 2000.

- KAYA, Z. et al. Identification of cardiac troponin I sequence motifs leading to heart failure by induction of myocardial inflammation and fibrosis. **Circulation**, v. 118, n. 20, p. 2063–2072, 11 nov. 2008.
- KELLY, M. M. et al. Cell-specific gene expression in patients with usual interstitial pneumonia. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 174, n. 5, p. 557–565, 1 set. 2006.
- KHALIL, N. et al. Macrophage production of transforming growth factor beta and fibroblast collagen synthesis in chronic pulmonary inflammation. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 170, n. 3, p. 727–737, 1 set. 1989.
- KHALIL, N. et al. Increased Production and Immunohistochemical Localization of Transforming Growth Factor- α in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 5, n. 2, p. 155–162, 1 ago. 1991.
- KHALIL, N. et al. TGF-beta 1, but not TGF-beta 2 or TGF-beta 3, is differentially present in epithelial cells of advanced pulmonary fibrosis: an immunohistochemical study. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 14, n. 2, p. 131–138, fev. 1996.
- KHALIL, N.; O'CONNOR, R. The Role of TGF- β in Bleomycin Induced Pulmonary Fibrosis. Em: JAKOWLEW, S. B. (Ed.). **Transforming Growth Factor- β in Cancer Therapy, Volume I: Basic and Clinical Biology**. Cancer Drug Discovery and Development. Totowa, NJ: Humana Press, 2008. p. 581–594.
- KHAN, Z. N. et al. Liver Proteome of Mice with Distinct Genetic Susceptibilities to Fluorosis Treated with Different Concentrations of F in the Drinking Water. **Biological Trace Element Research**, v. 187, n. 1, p. 107–119, 1 jan. 2019.
- KIM, K. K. et al. Alveolar epithelial cell mesenchymal transition develops in vivo during pulmonary fibrosis and is regulated by the extracellular matrix. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 35, p. 13180–13185, 29 ago. 2006.
- KIM, K. K. et al. Epithelial cell α 3 β 1 integrin links beta-catenin and Smad signaling to promote myofibroblast formation and pulmonary fibrosis. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 119, n. 1, p. 213–224, jan. 2009.
- KING, T. E.; PARDO, A.; SELMAN, M. Idiopathic pulmonary fibrosis. **Lancet (London, England)**, v. 378, n. 9807, p. 1949–1961, 3 dez. 2011.
- LAUDANNA, A. A. et al. South American blastomycosis as a cause of malabsorption and protein-losing enteropathy. **Arch. Gastroenterol.**, v. 12, n. 3, p. 195–198, 1975.
- LAURENT, G. J. et al. Biochemical and histological changes in pulmonary fibrosis induced in rabbits with intratracheal bleomycin. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 11, n. 6, p. 441–448, dez. 1981.
- LAURENT, G. J. Lung collagen: more than scaffolding. **Thorax**, v. 41, n. 6, p. 418–428, jun. 1986.

- LI, H. et al. Anti-microRNA-378a enhances wound healing process by upregulating integrin beta-3 and vimentin. **Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 22, n. 10, p. 1839–1850, out. 2014.
- LI, Z. et al. Pirfenidone suppresses MAPK signalling pathway to reverse epithelial-mesenchymal transition and renal fibrosis. **Nephrology**, v. 22, n. 8, p. 589–597, 2017.
- LODISH, H. et al. Myosin: The Actin Motor Protein. **Molecular Cell Biology**. 4th edition, 2000.
- LUCHSINGER, L. L. et al. Myocardin-related transcription factor-A complexes activate type I collagen expression in lung fibroblasts. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 51, p. 44116–44125, 23 dez. 2011.
- LV, Q. et al. Pirfenidone alleviates pulmonary fibrosis in vitro and in vivo through regulating Wnt/GSK-3 β / β -catenin and TGF- β 1/Smad2/3 signaling pathways. **Molecular Medicine**, v. 26, n. 1, p. 49, 24 maio 2020.
- M, T. et al. **Heat shock protein 90 (Hsp90) inhibition targets canonical TGF- β signalling to prevent fibrosis**. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23661493/>>. Acesso em: 10 set. 2020.
- MACK, C. P. et al. Smooth muscle differentiation marker gene expression is regulated by RhoA-mediated actin polymerization. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 1, p. 341–347, 5 jan. 2001.
- MARINOVA, M. et al. Post-treatment with a heat shock protein 90 inhibitor prevents chronic lung injury and pulmonary fibrosis, following acute exposure of mice to HCl. **Experimental Lung Research**, v. 46, n. 6, p. 203–216, ago. 2020.
- MARTINEZ, R. New Trends in Paracoccidioidomycosis Epidemiology. **Journal of Fungi (Basel, Switzerland)**, v. 3, n. 1, 3 jan. 2017.
- MARTINEZ, R.; MOYA, M. The relationship between paracoccidioidomycosis and alcoholism. **Revista de saúde pública**, v. 26, p. 12–6, 1 mar. 1992.
- MAZA, P. K. et al. Interaction of epithelial cell membrane rafts with Paracoccidioides brasiliensis leads to fungal adhesion and Src-family kinase activation. **Microbes and Infection**, v. 10, n. 5, p. 540–547, abr. 2008.
- MAZA, P. K. et al. Paracoccidioides brasiliensis induces secretion of IL-6 and IL-8 by lung epithelial cells. Modulation of host cytokine levels by fungal proteases. **Microbes and Infection**, v. 14, n. 12, p. 1077–1085, out. 2012.
- MENDES, R. P. et al. Paracoccidioidomycosis: Current Perspectives from Brazil. **The Open Microbiology Journal**, v. 11, n. 1, 31 out. 2017.
- MENDES-GIANNINI, M. J. S. et al. Invasion of epithelial mammalian cells by Paracoccidioides brasiliensis leads to cytoskeletal rearrangement and apoptosis of the host cell. **Microbes and Infection**, v. 6, n. 10, p. 882–891, ago. 2004.
- MENDES-GIANNINI, M. J. S. et al. Binding of extracellular matrix proteins to Paracoccidioides brasiliensis. **Microbes and Infection**, v. 8, n. 6, p. 1550–1559, maio 2006.

- MENDES-GIANNINI, M. J. S. et al. Interactions of *Paracoccidioides brasiliensis* with host cells: recent advances. **Mycopathologia**, v. 165, n. 4, p. 237–248, 1 abr. 2008.
- MENEGHIN, A.; HOGABOAM, C. M. Infectious disease, the innate immune response, and fibrosis. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 117, n. 3, p. 530–538, mar. 2007.
- MILLS, M. A. et al. Differential expression for the actin-binding proteins, α -actinin-2 and -3, in different species: Implications for the evolution of functional redundancy. **Human Molecular Genetics**, v. 10, n. 13, p. 1335–1346, 2001.
- MIYAJI, M.; NISHIMURA, K. Granuloma formation and killing functions of granuloma in congenitally athymic nude mice infected with *Blastomyces dermatitidis* and *Paracoccidioides brasiliensis*. **Mycopathologia**, v. 82, n. 3, p. 129–141, 20 jun. 1983.
- MONTEIRO DA SILVA, J. L. et al. Epithelial cells treated with genistein inhibit adhesion and endocytosis of *Paracoccidioides brasiliensis*. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 92, n. 1, p. 129–135, jul. 2007.
- MOOKERJEE, R. P. et al. Neutrophil dysfunction in alcoholic hepatitis superimposed on cirrhosis is reversible and predicts the outcome. **Hepatology (Baltimore, Md.)**, v. 46, n. 3, p. 831–840, set. 2007.
- MOSCARDI-BACCHI, M. et al. In situ localization of T lymphocyte subsets in human paracoccidioidomycosis. **Journal of Medical and Veterinary Mycology: Bi-Monthly Publication of the International Society for Human and Animal Mycology**, v. 27, n. 3, p. 149–158, 1989.
- MURALIDHARAN, S.; MANDREKAR, P. Cellular stress response and innate immune signaling: integrating pathways in host defense and inflammation. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 94, n. 6, p. 1167–1184, dez. 2013.
- NASH, J. R. G. et al. Expression of tumour necrosis factor- α in cryptogenic fibrosing alveolitis. **Histopathology**, v. 22, n. 4, p. 343–347, 1993.
- OBAYASHI, Y. et al. The role of neutrophils in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. **Chest**, v. 112, n. 5, p. 1338–1343, 5 nov. 1997.
- OKADA, T.; SUGIE, I.; AISAKA, K. Effects of gamma-interferon on collagen and histamine content in bleomycin-induced lung fibrosis in rats. **Lymphokine and Cytokine Research**, v. 12, n. 2, p. 87–91, abr. 1993.
- ORIENTE, A. et al. Interleukin-13 modulates collagen homeostasis in human skin and keloid fibroblasts. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 292, n. 3, p. 988–994, mar. 2000.
- PAQUET, K. J.; KAMPHAUSEN, U. The carbon-tetrachloride-hepatotoxicity as a model of liver damage. First report: Long-time biochemical changes. **Acta Hepato-Gastroenterologica**, v. 22, n. 2, p. 84–88, abr. 1975.
- PARDO, A.; SELMAN, M. Molecular mechanisms of pulmonary fibrosis. **Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library**, v. 7, p. d1743-1761, 1 ago. 2002.

- PEÃO, M. N. et al. Neoformation of blood vessels in association with rat lung fibrosis induced by bleomycin. **The Anatomical Record**, v. 238, n. 1, p. 57–67, jan. 1994.
- PENG, R. et al. Bleomycin Induces Molecular Changes Directly Relevant to Idiopathic Pulmonary Fibrosis: A Model for “Active” Disease. **PLOS ONE**, v. 8, n. 4, p. e59348, 2 abr. 2013.
- PERES DA SILVA, R. et al. Differential gene expression analysis of *Paracoccidioides brasiliensis* during keratinocyte infection. **Journal of Medical Microbiology**, v. 60, n. Pt 3, p. 269–280, mar. 2011a.
- PERES DA SILVA, R. et al. Differential gene expression analysis of *Paracoccidioides brasiliensis* during keratinocyte infection. **Journal of Medical Microbiology**, v. 60, n. Pt 3, p. 269–280, mar. 2011b.
- PLATÉ, M.; GUILLOTIN, D.; CHAMBERS, R. C. The promise of mTOR as a therapeutic target pathway in idiopathic pulmonary fibrosis. **European Respiratory Review: An Official Journal of the European Respiratory Society**, v. 29, n. 157, p. 200269, 30 set. 2020.
- POSTLETHWAITE, A. E. et al. Human fibroblasts synthesize elevated levels of extracellular matrix proteins in response to interleukin 4. **Journal of Clinical Investigation**, v. 90, n. 4, p. 1479–1485, out. 1992.
- PRADO, M. et al. Mortality due to systemic mycoses as a primary cause of death or in association with AIDS in Brazil: a review from 1996 to 2006. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 3, p. 513–521, maio 2009.
- RAMAIAH, S. K.; JAESCHKE, H. Role of neutrophils in the pathogenesis of acute inflammatory liver injury. **Toxicologic Pathology**, v. 35, n. 6, p. 757–766, out. 2007.
- RESTREPO, A. et al. Pulmonary paracoccidioidomycosis. **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 29, n. 2, p. 182–197, abr. 2008.
- RESTREPO, M. A. [The immunodiffusion technic in the diagnosis of paracoccidioidomycosis]. **Sabouraudia**, v. 4, n. 4, p. 223–230, fev. 1966.
- RICARDO, S. D.; VAN GOOR, H.; EDDY, A. A. Macrophage diversity in renal injury and repair. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 118, n. 11, p. 3522–3530, nov. 2008.
- RIENTO, K. et al. RhoE binds to ROCK I and inhibits downstream signaling. **Molecular and Cellular Biology**, v. 23, n. 12, p. 4219–4229, jun. 2003.
- RODRIGUEZ-ECHEVERRI, C.; PUERTA-ARIAS, J. D.; GONZÁLEZ, Á. *Paracoccidioides brasiliensis* activates mesenchymal stem cells through TLR2, TLR4, and Dectin-1. **Medical Mycology**, v. 59, n. 2, p. 149–157, 4 fev. 2021.
- SAN-BLAS, G.; NIÑO-VEGA, G. *Paracoccidioides brasiliensis*: chemical and molecular tools for research on cell walls, antifungals, diagnosis, taxonomy. **Mycopathologia**, v. 165, n. 4–5, p. 183–195, maio 2008.
- SANDBO, N. et al. Critical role of serum response factor in pulmonary myofibroblast differentiation induced by TGF-beta. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 41, n. 3, p. 332–338, set. 2009.

SAYED, E. A. et al. Induction of liver fibrosis by CCl₄ mediates pathological alterations in the spleen and lymph nodes: The potential therapeutic role of propolis. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 2, p. 1272–1282, 1 fev. 2021.

SCHAFER, M. J. et al. Cellular senescence mediates fibrotic pulmonary disease. **Nat Commun.**, v. 8, p. 14532, 2017.

SELMAN, M. et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: prevailing and evolving hypotheses about its pathogenesis and implications for therapy. **Annals of Internal Medicine**, v. 134, n. 2, p. 136–151, 16 jan. 2001.

SELVARAJ, A.; PRYWES, R. Expression profiling of serum inducible genes identifies a subset of SRF target genes that are MKL dependent. **BMC molecular biology**, v. 5, p. 13, 25 ago. 2004.

SEVERO, L. C. et al. The primary pulmonary lymph node complex in paracoccidioidomycosis. **Mycopathologia**, v. 67, n. 2, p. 115–118, 31 maio 1979.

SHIKANAI-YASUDA, M. A. PARACOCIDIOIDOMYCOSIS TREATMENT. **Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo**, v. 57 Suppl 19, p. 31–37, set. 2015.

SHIKANAI-YASUDA, M. A. et al. Brazilian guidelines for the clinical management of paracoccidioidomycosis. **Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical**, p. 0, 20 jul. 2017.

SIBINSKA, Z. et al. Amplified canonical transforming growth factor- β signalling via heat shock protein 90 in pulmonary fibrosis. **The European Respiratory Journal**, v. 49, n. 2, 2017.

SINGULANI, J. DE L. et al. Fungal-host interactions: insights into microRNA in response to Paracoccidioides species. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 115, p. e200238, 3 ago. 2020.

SINHA, S.; YANG, W. Cellular signaling for activation of Rho GTPase Cdc42. **Cellular Signalling**, v. 20, n. 11, p. 1927–1934, nov. 2008.

SOLOPOV, P. et al. The HSP90 Inhibitor, AUY-922, Ameliorates the Development of Nitrogen Mustard-Induced Pulmonary Fibrosis and Lung Dysfunction in Mice. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 13, 3 jul. 2020.

SONTAKE, V. et al. Hsp90 regulation of fibroblast activation in pulmonary fibrosis. **JCI insight**, v. 2, n. 4, p. e91454, 23 fev. 2017.

SOUTHERN, B. D. et al. Matrix-driven Myosin II Mediates the Pro-fibrotic Fibroblast Phenotype. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 291, n. 12, p. 6083–6095, 18 mar. 2016.

SPERANDIO, F. F. et al. Resistance to P. brasiliensis Experimental Infection of Inbred Mice Is Associated with an Efficient Neutrophil Mobilization and Activation by Mediators of Inflammation. **Mediators of Inflammation**, v. 2015, p. 430525, 2015.

SUROLIA, R. et al. Vimentin intermediate filament assembly regulates fibroblast invasion in fibrogenic lung injury. **JCI insight**, v. 4, n. 7, p. 123253, 4 abr. 2019.

- SWIDERSKI, R. E. et al. Differential expression of extracellular matrix remodeling genes in a murine model of bleomycin-induced pulmonary fibrosis. **The American Journal of Pathology**, v. 152, n. 3, p. 821–828, mar. 1998.
- TABATA, C. et al. Thalidomide Prevents Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis in Mice. **The Journal of Immunology**, v. 179, n. 1, p. 708–714, 1 jul. 2007.
- TANJORE, H. et al. Contribution of epithelial-derived fibroblasts to bleomycin-induced lung fibrosis. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 180, n. 7, p. 657–665, 1 out. 2009.
- TASHIRO, J. et al. Exploring Animal Models That Resemble Idiopathic Pulmonary Fibrosis. **Frontiers in Medicine**, v. 4, 28 jul. 2017.
- TEIXEIRA, M. M. et al. Phylogenetic analysis reveals a high level of speciation in the *Paracoccidioides* genus. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 52, n. 2, p. 273–283, ago. 2009.
- TOBÓN, A. M. et al. Residual pulmonary abnormalities in adult patients with chronic paracoccidioidomycosis: prolonged follow-up after itraconazole therapy. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 37, n. 7, p. 898–904, 1 out. 2003.
- TOMASEK, J. J. et al. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. **Nature Reviews. Molecular Cell Biology**, v. 3, n. 5, p. 349–363, maio 2002.
- TRITTO, G. et al. Evidence of neutrophil functional defect despite inflammation in stable cirrhosis. **Journal of Hepatology**, v. 55, n. 3, p. 574–581, set. 2011.
- TRIVEDI, P. P. et al. NK cells inhibit T cell proliferation via p21-mediated cell cycle arrest. **J Immunol.** v. 174, n. 8, p. 4590-4597, abr. 2005.
- TSOU, P.-S. et al. Cellular Mechanisms of Tissue Fibrosis. 8. Current and future drug targets in fibrosis: focus on Rho GTPase-regulated gene transcription. **American Journal of Physiology - Cell Physiology**, v. 307, n. 1, p. C2–C13, 1 jul. 2014.
- TUDER, R. M. et al. Pathology of the human pulmonary paracoccidioidomycosis. **Mycopathologia**, v. 92, n. 3, p. 179–188, dez. 1985.
- TURISSINI, D. A. et al. Species boundaries in the human pathogen *Paracoccidioides*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 106, p. 9–25, 1 set. 2017.
- VENTURINI, J. et al. Phenotypic and functional evaluations of peripheral blood monocytes from chronic-form paracoccidioidomycosis patients before and after treatment. **BMC infectious diseases**, v. 14, p. 552, 16 out. 2014.
- WALKIN, L. et al. The role of mouse strain differences in the susceptibility to fibrosis: a systematic review. **Fibrogenesis & Tissue Repair**, v. 6, n. 1, p. 18, 25 set. 2013.
- WANG, L. et al. Regulation of the cell cycle and PI3K/Akt/mTOR signaling pathway by tanshinone I in human breast cancer cell lines. **Mol Med Rep.**, v. 11, n. 2, p.931-939, 2015.

WEBER, L. W. D.; BOLL, M.; STAMPFL, A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 33, n. 2, p. 105–136, 2003.

WEBER, S. A. T. et al. Dysphonia and laryngeal sequelae in paracoccidioidomycosis patients: a morphological and phoniatic study. **Medical Mycology**, v. 44, n. 3, p. 219–225, maio 2006.

WEISS, S. J. Tissue destruction by neutrophils. **The New England Journal of Medicine**, v. 320, n. 6, p. 365–376, 9 fev. 1989.

WESTERMANN, W. et al. Th2 cells as effectors in postirradiation pulmonary damage preceding fibrosis in the rat. **International Journal of Radiation Biology**, v. 75, n. 5, p. 629–638, maio 1999.

WETZLER, C. et al. Large and sustained induction of chemokines during impaired wound healing in the genetically diabetic mouse: prolonged persistence of neutrophils and macrophages during the late phase of repair. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 115, n. 2, p. 245–253, ago. 2000.

WOODCOCK, H. V. et al. The mTORC1/4E-BP1 axis represents a critical signaling node during fibrogenesis. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 6, 2 jan. 2019.

WYNN, T. A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. **The Journal of Pathology**, v. 214, n. 2, p. 199–210, jan. 2008.

XI, Y. et al. Inhibition of Epithelial-to-Mesenchymal Transition and Pulmonary Fibrosis by Methacycline. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 50, n. 1, p. 51–60, jan. 2014.

XU, J.; LAMOUILLE, S.; DERYNCK, R. TGF-beta-induced epithelial to mesenchymal transition. **Cell Research**, v. 19, n. 2, p. 156–172, fev. 2009.

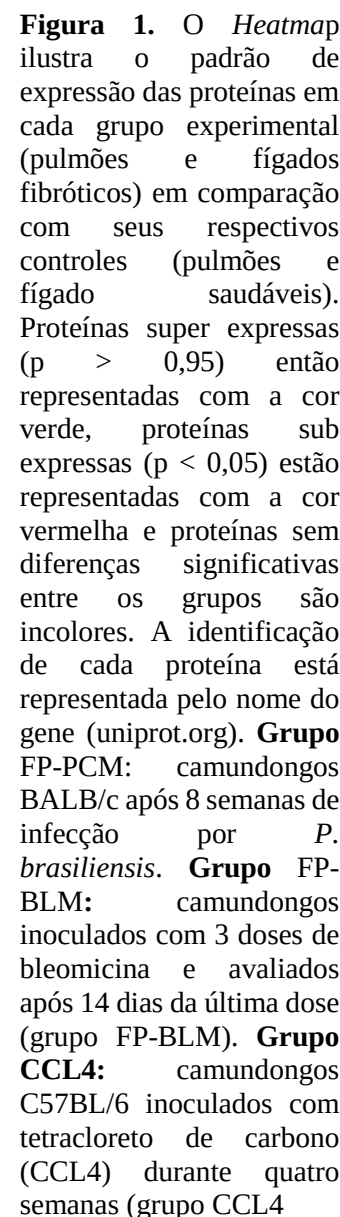
YANG, Y. et al. Involvement of serum response factor isoforms in myofibroblast differentiation during bleomycin-induced lung injury. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 29, n. 5, p. 583–590, nov. 2003.

YOKOZEKI, M. et al. Interferon-gamma inhibits the myofibroblastic phenotype of rat palatal fibroblasts induced by transforming growth factor-beta1 in vitro. **FEBS letters**, v. 442, n. 1, p. 61–64, 8 jan. 1999.

ZHOU, Y. et al. Inhibition of mechanosensitive signaling in myofibroblasts ameliorates experimental pulmonary fibrosis. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 123, n. 3, p. 1096–1108, mar. 2013.

ZIESCHE, R. et al. A preliminary study of long-term treatment with interferon gamma-1b and low-dose prednisolone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. **The New England Journal of Medicine**, v. 341, n. 17, p. 1264–1269, 21 out. 1999.

APENDICE I



APENDICE II

Tabela 1. Proteínas com expressões significativamente alteradas em pulmões fibróticos de camundongos BALB/c após 8 semanas de infecção por *P. brasiliensis* (grupo FP-PCM) em relação a pulmões saudáveis (grupo controle).

^a Access Number	Protein name	PLGS score	^b Ratio FP-PCM:C trl
P06467	Hemoglobin subunit zeta	98	40.85
O08807	Peroxiredoxin-4	623	14.30
Q64467	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase_ testis-specific	64	7.85
P35700	Peroxiredoxin-1	1592	7.77
P05063	Fructose-bisphosphate aldolase C	189	4.90
P17183	Gamma-enolase	270	4.85
P18242	Cathepsin D	343	4.81
P08905	Lysozyme C-2	75	4.76
P10107	Annexin A1	114	4.31
P52480	Pyruvate kinase PKM	625	4.31
P16858	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	1835	3.90
P53657	Pyruvate kinase PKLR	38	3.90
P34884	Macrophage migration inhibitory factor	463	3.82
Q61233	Plastin-2	355	3.74
P17182	Alpha-enolase	1042	3.63
O35711	Liprin-beta-2	441	3.53
P11531	Dystrophin	66	3.49
P21550	Beta-enolase	36	3.42
Q9DBJ1	Phosphoglycerate mutase 1	235	3.25
P51150	Ras-related protein Rab-7a	249	3.22
Q60930	Voltage-dependent anion-selective channel protein 2	124	3.06
P99029	Peroxiredoxin-5_ mitochondrial	171	3.00
P09411	Phosphoglycerate kinase 1	41	2.94
Q9CPW0	Contactin-associated protein-like 2	45	2.92
Q04447	Creatine kinase B-type	188	2.92
Q91VI7	Ribonuclease inhibitor	230	2.92
P97429	Annexin A4	190	2.83
Q922R8	Protein disulfide-isomerase A6	496	2.64
P62962	Profilin-1	1887	2.61
Q99JY9	Actin-related protein 3	520	2.51
Q9JKF1	Ras GTPase-activating-like protein IQGAP1	122	2.51
Q6ZQ12	Ninein-like protein	95	2.46
Q921I1	Serotransferrin	659	2.44
P17751	Triosephosphate isomerase	876	2.32
P06151	L-lactate dehydrogenase A chain	858	2.27
Q9JI91	Alpha-actinin-2	77	2.25

Q9CQN1	Heat shock protein 75 kDa_mitochondrial	395	2.25
P24527	Leukotriene A-4 hydrolase	61	2.23
P70296	Phosphatidylethanolamine-binding protein 1	226	2.20
P05064	Fructose-bisphosphate aldolase A	876	2.14
P20029	78 kDa glucose-regulated protein	719	2.12
P62984	Ubiquitin-60S ribosomal protein L40	1218	2.12
P00920	Carbonic anhydrase 2	357	2.10
Q0VGM9	Regulator of telomere elongation helicase 1	87	2.10
P02088	Hemoglobin subunit beta-1	17140	2.10
Q91X72	Hemopexin	187	2.10
P0CG49	Polyubiquitin-B	1218	2.10
P0CG50	Polyubiquitin-C	1218	2.10
P62983	Ubiquitin-40S ribosomal protein S27a	1218	2.10
P62631	Elongation factor 1-alpha 2	435	2.08
Q91ZR1	Ras-related protein Rab-4B	1147	2.05
Q91V41	Ras-related protein Rab-14	1147	2.05
P62823	Ras-related protein Rab-3C	1147	2.05
Q8BHC1	Ras-related protein Rab-39B	1147	2.03
P35276	Ras-related protein Rab-3D	1147	2.03
P07724	Serum albumin	11370	2.03
P61294	Ras-related protein Rab-6B	1043	2.01
Q923S9	Ras-related protein Rab-30	1147	2.01
Q8BHD0	Ras-related protein Rab-39A	1043	2.01
P07758	Alpha-1-antitrypsin 1-1	141	1.99
Q504M8	Ras-related protein Rab-26	1147	1.99
Q9JKM7	Ras-related protein Rab-37	1147	1.99
Q9CZT8	Ras-related protein Rab-3B	1147	1.99
P56371	Ras-related protein Rab-4A	1147	1.99
P63011	Ras-related protein Rab-3A	1147	1.97
P40124	Adenylyl cyclase-associated protein 1	372	1.95
Q8CG50	Ras-related protein Rab-43	1147	1.95
O35963	Ras-related protein Rab-33B	1071	1.93
P35283	Ras-related protein Rab-12	1147	1.93
P35279	Ras-related protein Rab-6A	1043	1.92
P16045	Galectin-1	154	1.92
Q91VW3	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 3	447	1.92
Q00896	Alpha-1-antitrypsin 1-3	141	1.90
P61027	Ras-related protein Rab-10	2353	1.88
P22599	Alpha-1-antitrypsin 1-2	141	1.86
Q3UIZ8	Myosin light chain kinase 3	162	1.84
Q00897	Alpha-1-antitrypsin 1-4	141	1.84
P10126	Elongation factor 1-alpha 1	1243	1.84
P18760	Cofilin-1	726	1.82

P55258	Ras-related protein Rab-8A	2353	1.82
P61028	Ras-related protein Rab-8B	2353	1.82
Q8BX70	Vacuolar protein sorting-associated protein 13C	179	1.82
Q8K386	Ras-related protein Rab-15	2362	1.80
P40142	Transketolase	90	1.80
Q8BG05	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A3	254	1.79
P62821	Ras-related protein Rab-1A	2792	1.79
Q9D1G1	Ras-related protein Rab-1B	2353	1.79
Q6PHN9	Ras-related protein Rab-35	2504	1.79
Q61171	Peroxiredoxin-2	724	1.75
P62908	40S ribosomal protein S3	259	1.73
P58252	Elongation factor 2	45	1.72
P50516	V-type proton ATPase catalytic subunit A	184	1.70
P09103	Protein disulfide-isomerase	97	1.70
P45591	Cofilin-2	164	1.68
P31786	Acyl-CoA-binding protein	649	1.67
O88342	WD repeat-containing protein 1	140	1.67
O08810	116 kDa U5 small nuclear ribonucleoprotein component	222	1.65
P10630	Eukaryotic initiation factor 4A-II	980	1.65
Q03734	Serine protease inhibitor A3M	1052	1.65
P14206	40S ribosomal protein AS	463	1.63
P07901	Heat shock protein HSP 90-alpha	347	1.63
Q9DD03	Ras-related protein Rab-13	1206	1.63
P60843	Eukaryotic initiation factor 4A-I	980	1.60
O35639	Annexin A3	130	1.58
P21981	Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase 2	108	1.57
P47754	F-actin-capping protein subunit alpha-2	200	1.55
P27773	Protein disulfide-isomerase A3	439	1.55
P07759	Serine protease inhibitor A3K	1582	1.54
P0DP27	Calmodulin-2	2257	1.52
P00342	L-lactate dehydrogenase C chain	377	1.52
Q8VDD5	Myosin-9	342	1.52
P19246	Neurofilament heavy polypeptide	398	1.52
P47955	60S acidic ribosomal protein P1	915	1.51
P0DP26	Calmodulin-1	2257	1.51
P0DP28	Calmodulin-3	2257	1.51
P08553	Neurofilament medium polypeptide	413	1.51
P46660	Alpha-internexin	404	1.49
P60764	Ras-related C3 botulinum toxin substrate 3	1448	1.49
Q8CGP0	Histone H2B type 3-B	4624	1.46
P08551	Neurofilament light polypeptide	398	1.46
Q91VC3	Eukaryotic initiation factor 4A-III	768	1.45
P11499	Heat shock protein HSP 90-beta	552	1.45

C0HKE2	Histone H2A type 1-C	2820	1.45
C0HKE9	Histone H2A type 1-P	2820	1.45
Q6GSS7	Histone H2A type 2-A	2762	1.45
Q8BFU2	Histone H2A type 3	2820	1.45
Q8R1M2	Histone H2A.J	2820	1.45
P15532	Nucleoside diphosphate kinase A	1300	1.45
Q5I2A0	Serine protease inhibitor A3G	1052	1.45
Q01853	Transitional endoplasmic reticulum ATPase	139	1.45
P00329	Alcohol dehydrogenase 1	93	1.43
O88990	Alpha-actinin-3	77	1.43
C0HKE1	Histone H2A type 1-B	2820	1.43
C0HKE3	Histone H2A type 1-D	2820	1.43
C0HKE4	Histone H2A type 1-E	2820	1.43
Q8CGP5	Histone H2A type 1-F	2820	1.43
C0HKE5	Histone H2A type 1-G	2820	1.43
Q8CGP6	Histone H2A type 1-H	2820	1.43
C0HKE6	Histone H2A type 1-I	2820	1.43
Q8CGP7	Histone H2A type 1-K	2820	1.43
C0HKE7	Histone H2A type 1-N	2820	1.43
C0HKE8	Histone H2A type 1-O	2820	1.43
Q64523	Histone H2A type 2-C	2762	1.43
P02104	Hemoglobin subunit epsilon-Y2	1306	1.42
Q64524	Histone H2B type 2-E	4624	1.42
Q9D2U9	Histone H2B type 3-A	4624	1.42
P02089	Hemoglobin subunit beta-2	2071	1.40
P29621	Serine protease inhibitor A3C	1052	1.40
Q91WP6	Serine protease inhibitor A3N	1052	1.40
Q8VEK3	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U	110	1.39
P63001	Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1	1661	1.38
Q01768	Nucleoside diphosphate kinase B	1213	1.38
Q05144	Ras-related C3 botulinum toxin substrate 2	1661	1.36
P63017	Heat shock cognate 71 kDa protein	1937	1.35
P48036	Annexin A5	3090	1.34
Q64475	Histone H2B type 1-B	4894	1.32
P10853	Histone H2B type 1-F/J/L	4894	1.32
Q64478	Histone H2B type 1-H	4894	1.32
Q8CGP2	Histone H2B type 1-P	4894	1.32
Q8CGP1	Histone H2B type 1-K	4894	1.31
P10854	Histone H2B type 1-M	4894	1.31
Q64525	Histone H2B type 2-B	4894	1.31
P60766	Cell division control protein 42 homolog	1476	1.30
P31001	Desmin	767	1.28
P16125	L-lactate dehydrogenase B chain	377	1.26

P16627	Heat shock 70 kDa protein 1-like	732	1.26
P17156	Heat shock-related 70 kDa protein 2	1140	1.26
Q3THW5	Histone H2A.V	1977	1.26
P0C0S6	Histone H2A.Z	1977	1.26
P27661	Histone H2AX	2034	1.26
P00405	Cytochrome c oxidase subunit 2	239	1.23
P17879	Heat shock 70 kDa protein 1B	741	1.23
P01942	Hemoglobin subunit alpha	10092	1.23
P63101	14-3-3 protein zeta/delta	1580	1.22
Q61696	Heat shock 70 kDa protein 1A	741	1.22
Q64522	Histone H2A type 2-B	1977	1.22
Q8BWT1	3-ketoacyl-CoA thiolase_ mitochondrial	181	1.19
Q8BFZ3	Beta-actin-like protein 2	8664	1.17
Q68FD5	Clathrin heavy chain 1	86	1.17
P19096	Fatty acid synthase	33	1.17
P08249	Malate dehydrogenase_ mitochondrial	1708	1.17
P20152	Vimentin	8334	1.17
Q62465	Synaptic vesicle membrane protein VAT-1 homolog	251	1.16
Q6ZWY9	Histone H2B type 1-C/E/G	4894	1.16
Q61598	Rab GDP dissociation inhibitor beta	196	1.15
A2AQ07	Tubulin beta-1 chain	266	1.14
P70696	Histone H2B type 1-A	966	1.14
Q9ET01	Glycogen phosphorylase_ liver form	294	1.12
Q7TPR4	Alpha-actinin-1	456	1.11
Q03265	ATP synthase subunit alpha_ mitochondrial	584	1.07
Q8CI94	Glycogen phosphorylase_ brain form	808	1.06
Q80TF6	StAR-related lipid transfer protein 9	64	0.11
Q04857	Collagen alpha-1(VI) chain	120	0.23
E9Q3L2	Phosphatidylinositol 4-kinase alpha	86	0.25
Q9DCN2	NADH-cytochrome b5 reductase 3	229	0.29
Q62151	Advanced glycosylation end product-specific receptor	5682	0.30
P08074	Carbonyl reductase [NADPH] 2	22259	0.31
O35945	Aldehyde dehydrogenase_ cytosolic 1	1632	0.33
Q8BH64	EH domain-containing protein 2	846	0.33
P24549	Retinal dehydrogenase 1	1977	0.35
Q08481	Platelet endothelial cell adhesion molecule	91	0.35
P33267	Cytochrome P450 2F2	161	0.35
Q62148	Retinal dehydrogenase 2	146	0.36
Q9JHW9	Aldehyde dehydrogenase family 1 member A3	146	0.36
Q9CZS1	Aldehyde dehydrogenase X_ mitochondrial	146	0.38
O54724	Caveolae-associated protein 1	537	0.39
P16546	Spectrin alpha chain_ non-erythrocytic 1	131	0.39
P20801	Troponin C_ skeletal muscle	110	0.41

Q8VCT4	Carboxylesterase 1D	737	0.42
Q9DCT8	Cysteine-rich protein 2	3703	0.43
P54071	Isocitrate dehydrogenase [NADP]_ mitochondrial	89	0.44
Q91WU0	Carboxylesterase 1F	88	0.45
Q02257	Junction plakoglobin	124	0.45
P48678	Prelamin-A/C	712	0.45
P10493	Nidogen-1	95	0.45
Q08857	Platelet glycoprotein 4	321	0.45
Q6URW6	Myosin-14	291	0.46
P17563	Selenium-binding protein 1	3743	0.47
Q9R1Q8	Transgelin-3	87	0.48
O08553	Dihydropyrimidinase-related protein 2	1727	0.48
Q64727	Vinculin	773	0.48
E9Q555	E3 ubiquitin-protein ligase RNF213	81	0.49
Q02788	Collagen alpha-2(VI) chain	39	0.50
P09542	Myosin light chain 3	124	0.50
Q63836	Selenium-binding protein 2	3713	0.50
P26231	Catenin alpha-1	43	0.50
P23953	Carboxylesterase 1C	70	0.50
P10649	Glutathione S-transferase Mu 1	4035	0.50
P05977	Myosin light chain 1/3_ skeletal muscle isoform	61	0.50
Q62188	Dihydropyrimidinase-related protein 3	136	0.53
Q62261	Spectrin beta chain_ non-erythrocytic 1	116	0.53
O55103	Periaxin	114	0.54
P47738	Aldehyde dehydrogenase_ mitochondrial	3188	0.54
P97315	Cysteine and glycine-rich protein 1	182	0.54
Q60597	2-oxoglutarate dehydrogenase_ mitochondrial	143	0.54
Q9R069	Basal cell adhesion molecule	401	0.55
P18872	Guanine nucleotide-binding protein G(o) subunit alpha	1164	0.56
O08709	Peroxiredoxin-6	8840	0.56
P40936	Indolethylamine N-methyltransferase	1253	0.57
Q8CI43	Myosin light chain 6B	1355	0.57
Q8CGK7	Guanine nucleotide-binding protein G(olf) subunit alpha	1164	0.58
P27600	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-12	1234	0.58
	Guanine nucleotide-binding protein G(s) subunit alpha isoforms short	1164	0.59
P63094			
Q08091	Calponin-1	72	0.59
P19001	Keratin_ type I cytoskeletal 19	247	0.60
P27601	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-13	1246	0.61
P07356	Annexin A2	1988	0.61
P97427	Dihydropyrimidinase-related protein 1	187	0.61
B2RSH2	Guanine nucleotide-binding protein G(i) subunit alpha-1	1185	0.62
Q3V3I2	Guanine nucleotide-binding protein G(t) subunit alpha-3	1177	0.63

P20612	Guanine nucleotide-binding protein G(t) subunit alpha-1	1177	0.63
P50149	Guanine nucleotide-binding protein G(t) subunit alpha-2	1177	0.63
P26041	Moesin	1339	0.63
Q9DC51	Guanine nucleotide-binding protein G(k) subunit alpha	1177	0.64
P02468	Laminin subunit gamma-1	191	0.66
Q9D6F9	Tubulin beta-4A chain	3460	0.66
P29758	Ornithine aminotransferase_ mitochondrial	581	0.66
	Long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase_ mitochondrial		
P51174		101	0.67
Q62523	Zyxin	823	0.67
P08228	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	1962	0.68
Q99K51	Plastin-3	50	0.68
P05784	Keratin_ type I cytoskeletal 18	55	0.69
Q60605	Myosin light polypeptide 6	4439	0.70
P26043	Radixin	570	0.70
O88569	Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1	396	0.72
P68372	Tubulin beta-4B chain	5303	0.74
Q9QXS1	Plectin	62	0.75
Q61879	Myosin-10	84	0.77
O08638	Myosin-11	113	0.77
P41230	Lysine-specific demethylase 5C	224	0.77
P26040	Ezrin	378	0.79
P61979	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K	886	0.79
P14824	Annexin A6	74	0.79
P29699	Alpha-2-HS-glycoprotein	136	0.82
P11679	Keratin_ type II cytoskeletal 8	299	0.83
P26039	Talin-1	492	0.84
P56480	ATP synthase subunit beta_ mitochondrial	935	0.84
P62259	14-3-3 protein epsilon	458	0.88
Q62009	Periostin	320	0.88
Q3UX10	Tubulin alpha chain-like 3	170	0.88
Q9DCV7	Keratin_ type II cytoskeletal 7	546	0.89
Q7TMM9	Tubulin beta-2A chain	5182	0.90
P15626	Glutathione S-transferase Mu 2	420	0.90
Q9CWF2	Tubulin beta-2B chain	5182	0.90
Q922F4	Tubulin beta-6 chain	2557	0.90
P68368	Tubulin alpha-4A chain	1627	0.91
P99024	Tubulin beta-5 chain	5424	0.91
P62737	Actin_ aortic smooth muscle	67335	0.93
P60710	Actin_ cytoplasmic 1	92132	0.93
P63268	Actin_ gamma-enteric smooth muscle	67335	0.93
P68369	Tubulin alpha-1A chain	3564	0.93
P68033	Actin_ alpha cardiac muscle 1	67374	0.94

P68134	Actin_ alpha skeletal muscle	66192	0.94
P05214	Tubulin alpha-3 chain	1853	0.94
P63260	Actin_ cytoplasmic 2	92137	0.96
Q9DCT1	1_5-anhydro-D-fructose reductase	41	FP-PCM*
Q8BJY1	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 5	91	FP-PCM
P63323	40S ribosomal protein S12	216	FP-PCM
P63276	40S ribosomal protein S17	248	FP-PCM
P62082	40S ribosomal protein S7	297	FP-PCM
Q9JLJ2	4-trimethylaminobutyraldehyde dehydrogenase	74	FP-PCM
P99027	60S acidic ribosomal protein P2	264	FP-PCM
Q9DCD0	6-phosphogluconate dehydrogenase_ decarboxylating	83	FP-PCM
Q9CQ60	6-phosphogluconolactonase	558	FP-PCM
E9Q4Z2	Acetyl-CoA carboxylase 2	32	FP-PCM
Q9EST5	Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member B	130	FP-PCM
P61161	Actin-related protein 2	359	FP-PCM
Q9JM76	Actin-related protein 2/3 complex subunit 3	454	FP-PCM
P59999	Actin-related protein 2/3 complex subunit 4	428	FP-PCM
Q641P0	Actin-related protein 3B	63	FP-PCM
Q80US4	Actin-related protein 5	105	FP-PCM
Q3UNX5	Acyl-coenzyme A synthetase ACSM3_ mitochondrial	71	FP-PCM
Q61315	Adenomatous polyposis coli protein	55	FP-PCM
P84078	ADP-ribosylation factor 1	776	FP-PCM
Q8BSL7	ADP-ribosylation factor 2	776	FP-PCM
P61205	ADP-ribosylation factor 3	776	FP-PCM

P61750	ADP-ribosylation factor 4	776	FP- PCM
P84084	ADP-ribosylation factor 5	776	FP- PCM
Q8JZQ2	AFG3-like protein 2	58	FP- PCM
Q9JII6	Alcohol dehydrogenase [NADP(+)]	74	FP- PCM
P28474	Alcohol dehydrogenase class-3	477	FP- PCM
Q8VC28	Aldo-keto reductase family 1 member C13	87	FP- PCM
Q8K2H4	Arf-GAP with coiled-coil_ ANK repeat and PH domain- containing protein 1	76	FP- PCM
Q61176	Arginase-1	114	FP- PCM
P16460	Argininosuccinate synthase	188	FP- PCM
A2AU72	Armadillo repeat-containing protein 3	53	FP- PCM
O88738	Baculoviral IAP repeat-containing protein 6	18	FP- PCM
P01887	Beta-2-microglobulin	519	FP- PCM
O08524	Beta-tectorin	109	FP- PCM
P48754	Breast cancer type 1 susceptibility protein homolog	123	FP- PCM
P97929	Breast cancer type 2 susceptibility protein homolog	32	FP- PCM
Q6AZB0	Brother of CDO	55	FP- PCM
Q922D8	C-1-tetrahydrofolate synthase_ cytoplasmic	70	FP- PCM
O35350	Calpain-1 catalytic subunit	52	FP- PCM
O89084	cAMP-specific 3'_5'-cyclic phosphodiesterase 4A	52	FP- PCM
Q8C196	Carbamoyl-phosphate synthase [ammonia]_ mitochondrial	107	FP- PCM
O70370	Cathepsin S	730	FP- PCM
Q9WUU7	Cathepsin Z	149	FP- PCM
Q9Z0H0	Cell division cycle 7-related protein kinase	172	FP- PCM

Q9CZW2	Centromere protein N	59	FP-PCM
Q6RT24	Centromere-associated protein E	42	FP-PCM
Q5DU05	Centrosomal protein of 164 kDa	20	FP-PCM
Q6A065	Centrosomal protein of 170 kDa	283	FP-PCM
Q9CZX2	Centrosomal protein of 89 kDa	104	FP-PCM
Q8CG03	cGMP-specific 3'_5'-cyclic phosphodiesterase	33	FP-PCM
Q9Z1Q5	Chloride intracellular channel protein 1	215	FP-PCM
P79568	Class Ib MHC antigen Qa-2	262	FP-PCM
Q9CQI6	Coactosin-like protein	341	FP-PCM
Q8CIE6	Coatomer subunit alpha	31	FP-PCM
Q9JIF7	Coatomer subunit beta	66	FP-PCM
O55029	Coatomer subunit beta'	49	FP-PCM
Q8BVF4	Coiled-coil domain-containing protein 30	31	FP-PCM
Q60847	Collagen alpha-1(XII) chain	53	FP-PCM
Q923P0	Collagen alpha-1(XX) chain	56	FP-PCM
P01027	Complement C3	64	FP-PCM
O08997	Copper transport protein ATOX1	1386	FP-PCM
O89053	Coronin-1A	1092	FP-PCM
Q91X84	CREB-regulated transcription coactivator 3	44	FP-PCM
Q91WA4	CXXC-type zinc finger protein 5	39	FP-PCM
Q99KY4	Cyclin-G-associated kinase	194	FP-PCM
P12787	Cytochrome c oxidase subunit 5A_ mitochondrial	321	FP-PCM
O08967	Cytohesin-3	95	FP-PCM

Q9CPY7	Cytosol aminopeptidase	122	FP- PCM
Q8BX80	Cytosolic endo-beta-N-acetylglucosaminidase	70	FP- PCM
Q9D1A2	Cytosolic non-specific dipeptidase	264	FP- PCM
Q80XN0	D-beta-hydroxybutyrate dehydrogenase_ mitochondrial	78	FP- PCM
Q8BZN6	Dedicator of cytokinesis protein 10	58	FP- PCM
Q60710	Deoxynucleoside triphosphate triphosphohydrolase SAMHD1	113	FP- PCM
Q6P5E8	Diacylglycerol kinase theta	83	FP- PCM
Q8CFD5	DNA excision repair protein ERCC-8	206	FP- PCM
P49717	DNA replication licensing factor MCM4	43	FP- PCM
Q9DBG6	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 2	115	FP- PCM
Q8BYH0	Dorsal root ganglia homeobox protein	90	FP- PCM
Q4VA61	Down syndrome cell adhesion molecule-like protein 1 homolog	66	FP- PCM
Q4U2R1	E3 ubiquitin-protein ligase HERC2	269	FP- PCM
Q8C669	E3 ubiquitin-protein ligase pellino homolog 1	95	FP- PCM
O88196	E3 ubiquitin-protein ligase TTC3	177	FP- PCM
Q3UVK0	Endoplasmic reticulum metalloproteinase 1	59	FP- PCM
Q9D1Q6	Endoplasmic reticulum resident protein 44	111	FP- PCM
P49290	Eosinophil peroxidase	57	FP- PCM
P42567	Epidermal growth factor receptor substrate 15	62	FP- PCM
Q9Z0J0	Epididymal secretory protein E1	471	FP- PCM
Q9QZ11	Exonuclease 1	228	FP- PCM
Q6P5F9	Exportin-1	40	FP- PCM
P47753	F-actin-capping protein subunit alpha-1	241	FP- PCM

Q05816	Fatty acid-binding protein_ epidermal	508	FP-PCM
P12710	Fatty acid-binding protein_ liver	634	FP-PCM
Q8K0E8	Fibrinogen beta chain	461	FP-PCM
Q8VCM7	Fibrinogen gamma chain	249	FP-PCM
A6PWD2	Forkhead-associated domain-containing protein 1	125	FP-PCM
P16110	Galectin-3	459	FP-PCM
Q8JZP9	GAS2-like protein 1	74	FP-PCM
Q9ESZ8	General transcription factor II-I	50	FP-PCM
Q99NI3	General transcription factor II-I repeat domain-containing protein 2	65	FP-PCM
P06745	Glucose-6-phosphate isomerase	156	FP-PCM
Q8BML9	GlutaminyI-tRNA synthetase	79	FP-PCM
P11352	Glutathione peroxidase 1	962	FP-PCM
Q64521	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase_ mitochondrial	62	FP-PCM
Q8VDU0	G-protein-signaling modulator 2	105	FP-PCM
P62827	GTP-binding nuclear protein Ran	178	FP-PCM
P06339	H-2 class I histocompatibility antigen_ D-37 alpha chain	64	FP-PCM
P01899	H-2 class I histocompatibility antigen_ D-B alpha chain	262	FP-PCM
P01900	H-2 class I histocompatibility antigen_ D-D alpha chain	289	FP-PCM
P14426	H-2 class I histocompatibility antigen_ D-K alpha chain	262	FP-PCM
P14427	H-2 class I histocompatibility antigen_ D-P alpha chain	124	FP-PCM
P01901	H-2 class I histocompatibility antigen_ K-B alpha chain	262	FP-PCM
P01902	H-2 class I histocompatibility antigen_ K-D alpha chain	88	FP-PCM
P04223	H-2 class I histocompatibility antigen_ K-K alpha chain	262	FP-PCM

P03991	H-2 class I histocompatibility antigen_ K-W28 alpha chain	262	FP-PCM
P01897	H-2 class I histocompatibility antigen_ L-D alpha chain	262	FP-PCM
P01898	H-2 class I histocompatibility antigen_ Q10 alpha chain	262	FP-PCM
P14429	H-2 class I histocompatibility antigen_ Q7 alpha chain	262	FP-PCM
P14430	H-2 class I histocompatibility antigen_ Q8 alpha chain	262	FP-PCM
P14432	H-2 class I histocompatibility antigen_ TLA(B) alpha chain	64	FP-PCM
P14483	H-2 class II histocompatibility antigen_ A beta chain	247	FP-PCM
P04228	H-2 class II histocompatibility antigen_ A-D alpha chain	340	FP-PCM
P01921	H-2 class II histocompatibility antigen_ A-D beta chain	246	FP-PCM
P06343	H-2 class II histocompatibility antigen_ A-K beta chain	51	FP-PCM
P06342	H-2 class II histocompatibility antigen_ A-Q beta chain	212	FP-PCM
P06345	H-2 class II histocompatibility antigen_ A-S beta chain	73	FP-PCM
P06344	H-2 class II histocompatibility antigen_ A-U beta chain	73	FP-PCM
P18469	H-2 class II histocompatibility antigen_ I-E beta chain	34	FP-PCM
Q61646	Haptoglobin	221	FP-PCM
Q61316	Heat shock 70 kDa protein 4	99	FP-PCM
Q99020	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A/B	58	FP-PCM
Q9Z130	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D-like	58	FP-PCM
Q3TRM8	Hexokinase-3	219	FP-PCM
Q8C2B3	Histone deacetylase 7	43	FP-PCM
P79457	Histone demethylase UTY	1072	FP-PCM
P10629	Homeobox protein Hox-C6	134	FP-PCM
P01878	Ig alpha chain C region	496	FP-PCM

P01868	Ig gamma-1 chain C region secreted form	2411	FP-PCM
P01869	Ig gamma-1 chain C region_ membrane-bound form	2411	FP-PCM
P01864	Ig gamma-2A chain C region secreted form	469	FP-PCM
P01863	Ig gamma-2A chain C region_ A allele	669	FP-PCM
P01865	Ig gamma-2A chain C region_ membrane-bound form	669	FP-PCM
P01867	Ig gamma-2B chain C region	789	FP-PCM
P06330	Ig heavy chain V region AC38 205.12	396	FP-PCM
P01757	Ig heavy chain V region J558	396	FP-PCM
P01756	Ig heavy chain V region MOPC 104E	396	FP-PCM
P01723	Ig lambda-1 chain V region	295	FP-PCM
P01727	Ig lambda-1 chain V region S43	295	FP-PCM
P01872	Ig mu chain C region	65	FP-PCM
Q9Z329	Inositol 1_4_5-trisphosphate receptor type 2	35	FP-PCM
B8JK39	Integrin alpha-9	53	FP-PCM
P11835	Integrin beta-2	75	FP-PCM
Q61098	Interleukin-18 receptor 1	81	FP-PCM
P24822	Intestinal-type alkaline phosphatase	85	FP-PCM
O88844	Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic	55	FP-PCM
Q69ZS8	Kazrin	100	FP-PCM
A2APT9	Kelch domain-containing protein 7A	42	FP-PCM
P28738	Kinesin heavy chain isoform 5C	32	FP-PCM
Q99PT9	Kinesin-like protein KIF19	81	FP-PCM
Q9QWT9	Kinesin-like protein KIFC1	47	FP-PCM

P08071	Lactotransferrin	230	FP-PCM
Q8R4U7	Leucine zipper protein 1	83	FP-PCM
Q9JHQ5	Leucine zipper transcription factor-like protein 1	132	FP-PCM
Q9D154	Leukocyte elastase inhibitor A	132	FP-PCM
Q61792	LIM and SH3 domain protein 1	257	FP-PCM
Q148V7	LisH domain and HEAT repeat-containing protein KIAA1468	106	FP-PCM
Q5SUF2	Luc7-like protein 3	215	FP-PCM
P17897	Lysozyme C-1	216	FP-PCM
P24452	Macrophage-capping protein	202	FP-PCM
Q8HWB0	Major histocompatibility complex class I-related gene protein	38	FP-PCM
P60755	MAM domain-containing glycosylphosphatidylinositol anchor protein 2	32	FP-PCM
Q3U435	Matrix metalloproteinase-25	39	FP-PCM
Q9D4I2	Meiosis inhibitor protein 1	137	FP-PCM
Q811U4	Mitofusin-1	116	FP-PCM
P28665	Murinoglobulin-1	120	FP-PCM
P28666	Murinoglobulin-2	30	FP-PCM
P11247	Myeloperoxidase	253	FP-PCM
Q66X03	NACHT_ LRR and PYD domains-containing protein 9A	38	FP-PCM
Q9JKF6	Nectin-1	130	FP-PCM
P11627	Neural cell adhesion molecule L1	111	FP-PCM
Q9CS84	Neurexin-1	94	FP-PCM
O09105	Neurogenic differentiation factor 4	63	FP-PCM
P11672	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin	217	FP-PCM

Q8VDK1	Nitrilase homolog 1	193	FP-PCM
Q3TL44	NLR family member X1	42	FP-PCM
Q6GQT9	Nodal modulator 1	45	FP-PCM
P09405	Nucleolin	51	FP-PCM
Q8R1N4	NudC domain-containing protein 3	180	FP-PCM
Q8BXR9	Oxysterol-binding protein-related protein 6	40	FP-PCM
Q8JZM7	Parafibromin	127	FP-PCM
Q0ZLH2	Pejvakin	118	FP-PCM
P24369	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B	105	FP-PCM
Q9R269	Periplakin	27	FP-PCM
Q8CHE4	PH domain leucine-rich repeat-containing protein phosphatase 1	28	FP-PCM
P40935	Phenylethanolamine N-methyltransferase	131	FP-PCM
Q69ZK0	Phosphatidylinositol 3_4_5-trisphosphate-dependent Rac exchanger 1 protein	56	FP-PCM
P53811	Phosphatidylinositol transfer protein beta isoform	112	FP-PCM
O70250	Phosphoglycerate mutase 2	88	FP-PCM
Q9CQJ2	PIH1 domain-containing protein 1	255	FP-PCM
G5E829	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 1	147	FP-PCM
Q9R0K7	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 2	147	FP-PCM
Q3V0K9	Plastin-1	85	FP-PCM
B2RPU2	Pleckstrin homology domain-containing family D member 1	52	FP-PCM
Q91W45	Polyadenylate-binding protein-interacting protein 2B	179	FP-PCM
Q61838	Pregnancy zone protein	81	FP-PCM
D3Z4R1	Probable ATP-dependent DNA helicase HFM1	67	FP-PCM

A2AKX3	Probable helicase senataxin	101	FP- PCM
Q5DTV4	Probable ribonuclease ZC3H12C	67	FP- PCM
P49935	Pro-cathepsin H	194	FP- PCM
Q61207	Prosaposin	204	FP- PCM
P97371	Proteasome activator complex subunit 1	210	FP- PCM
Q9Z2U1	Proteasome subunit alpha type-5	155	FP- PCM
Q9R144	Protein arginine N-methyltransferase 2	45	FP- PCM
Q8BS90	Protein aurora borealis	70	FP- PCM
P08003	Protein disulfide-isomerase A4	137	FP- PCM
Q3UHQ6	Protein dopey-2	29	FP- PCM
Q9DB52	Protein FAM122A	64	FP- PCM
A4Q9F1	Protein monoglycylase TTLL8	30	FP- PCM
Q99MR9	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 3A	34	FP- PCM
P50543	Protein S100-A11	140	FP- PCM
P27005	Protein S100-A8	10385	FP- PCM
P31725	Protein S100-A9	4214	FP- PCM
Q9QXN0	Protein Shroom3	87	FP- PCM
Q6ZPY2	Protein SMG5	43	FP- PCM
Q9CU24	Protein THEMIS3	66	FP- PCM
Q99PJ1	Protocadherin-15	37	FP- PCM
E9Q9D5	Rab-like protein 2A	85	FP- PCM
Q8CGE9	Regulator of G-protein signaling 12	97	FP- PCM
G3UYX5	Regulator of G-protein signaling 22	31	FP- PCM

Q61599	Rho GDP-dissociation inhibitor 2	1130	FP-PCM
Q8C5L7	RNA-binding protein 34	97	FP-PCM
E9PZQ0	Ryanodine receptor 1	48	FP-PCM
Q60988	SCL-interrupting locus protein homolog	71	FP-PCM
Q80X76	Serine protease inhibitor A3F	59	FP-PCM
P84104	Serine/arginine-rich splicing factor 3	629	FP-PCM
Q8BL97	Serine/arginine-rich splicing factor 7	46	FP-PCM
Q8CIN4	Serine/threonine-protein kinase PAK 2	55	FP-PCM
Q9Z1Z2	Serine-threonine kinase receptor-associated protein	44	FP-PCM
Q62087	Serum paraoxonase/lactonase 3	147	FP-PCM
Q9R0P3	S-formylglutathione hydrolase	809	FP-PCM
A2AA Y5	SH3 and PX domain-containing protein 2B	49	FP-PCM
Q9JJU8	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein	299	FP-PCM
Q920G3	Sialic acid-binding Ig-like lectin 5	53	FP-PCM
P42225	Signal transducer and activator of transcription 1	216	FP-PCM
Q8C0T5	Signal-induced proliferation-associated 1-like protein 1	17	FP-PCM
G3X9J0	Signal-induced proliferation-associated 1-like protein 3	205	FP-PCM
Q8R0L1	Signal-transducing adaptor protein 2	512	FP-PCM
A2ADF7	Solute carrier family 25 member 34	91	FP-PCM
Q3UTJ2	Sorbin and SH3 domain-containing protein 2	200	FP-PCM
Q6P8X1	Sorting nexin-6	79	FP-PCM
Q8VIJ6	Splicing factor_ proline- and glutamine-rich	75	FP-PCM
Q9D5L7	SPRY domain-containing SOCS box protein 1	174	FP-PCM

Q6PDS3	Sterile alpha and TIR motif-containing protein 1	37	FP-PCM
Q62407	Striated muscle-specific serine/threonine-protein kinase	133	FP-PCM
Q920F6	Structural maintenance of chromosomes protein 1B	44	FP-PCM
Q9Z104	SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily E member 1-related	96	FP-PCM
Q3UHK6	Teneurin-4	21	FP-PCM
Q8C0S4	Tetratricopeptide repeat protein 21A	44	FP-PCM
A3KMP2	Tetratricopeptide repeat protein 38	189	FP-PCM
O08811	TFIIH basal transcription factor complex helicase XPD subunit	51	FP-PCM
Q9CQU0	Thioredoxin domain-containing protein 12	86	FP-PCM
P10639	Thioredoxin	251	FP-PCM
Q99MB1	Toll-like receptor 3	52	FP-PCM
Q93092	Transaldolase	64	FP-PCM
Q8R2M0	Transcription elongation factor A N-terminal and central domain-containing protein 2	112	FP-PCM
Q62311	Transcription initiation factor TFIID subunit 6	118	FP-PCM
Q9WTR1	Transient receptor potential cation channel subfamily V member 2	47	FP-PCM
Q80W04	Transmembrane and coiled-coil domains protein 2	67	FP-PCM
Q99P91	Transmembrane glycoprotein NMB	172	FP-PCM
Q922P8	Transmembrane protein 132A	60	FP-PCM
Q6P2B1	Transportin-3	660	FP-PCM
Q9JLT2	Trehalase	53	FP-PCM
Q64514	Tripeptidyl-peptidase 2	80	FP-PCM
Q9JHI2	tRNA-specific adenosine deaminase 1	48	FP-PCM
Q80TQ2	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase CYLD	46	FP-PCM

Q5DU14	Unconventional myosin-XVI	45	FP-PCM
P40336	Vacuolar protein sorting-associated protein 26A	116	FP-PCM
P62814	V-type proton ATPase subunit B_ brain isoform	247	FP-PCM
Q8CGF6	WD repeat-containing protein 47	53	FP-PCM
Q9R0G7	Zinc finger E-box-binding homeobox 2	167	FP-PCM
Q02525	Zinc finger protein 39	37	FP-PCM
Q80Y81	Zinc phosphodiesterase ELAC protein 2	46	FP-PCM
Q64433	10 kDa heat shock protein_ mitochondrial	783	Ctrl
Q91ZV4	2-acylglycerol O-acyltransferase 1	117	Ctrl
Q3UHB1	5'-nucleotidase domain-containing protein 3	47	Ctrl
Q8QZT1	Acetyl-CoA acetyltransferase_ mitochondrial	213	Ctrl
Q8R2S9	Actin-related protein 8	81	Ctrl
Q8R146	Acylamino-acid-releasing enzyme	95	Ctrl
Q99P21	Adenine DNA glycosylase	153	Ctrl
P48962	ADP/ATP translocase 1	146	Ctrl
P51881	ADP/ATP translocase 2	146	Ctrl
Q3V132	ADP/ATP translocase 4	167	Ctrl
O88845	A-kinase anchor protein 10_ mitochondrial	47	Ctrl
O54931	A-kinase anchor protein 2	79	Ctrl
D3YVF0	A-kinase anchor protein 5	44	Ctrl
Q64362	AKT-interacting protein	184	Ctrl
P45376	Aldose reductase	54	Ctrl
Q19LI2	Alpha-1B-glycoprotein	40	Ctrl
Q9QYC0	Alpha-adducin	192	Ctrl
P61164	Alpha-centractin	61	Ctrl
A2RT91	Ankyrin and armadillo repeat-containing protein	65	Ctrl
Q8BUE4	Apoptosis-inducing factor 2	64	Ctrl
Q9WTY4	Aquaporin-5	149	Ctrl
Q8VHH5	Arf-GAP with GTPase_ ANK repeat and PH domain-containing protein 3	80	Ctrl
Q8BZ05	Arf-GAP with Rho-GAP domain_ ANK repeat and PH domain-containing protein 2	203	Ctrl
Q80VW7	AT-hook-containing transcription factor	50	Ctrl
Q9D3D9	ATP synthase subunit delta_ mitochondrial	197	Ctrl
O70318	Band 4.1-like protein 2	99	Ctrl
Q99JU7	Bcl-2/adenovirus E1B 19 kDa-interacting protein 2-like protein	86	Ctrl

P28653	Biglycan	151	Ctrl
	Brefeldin A-inhibited guanine nucleotide-exchange protein		
G3X9K3	1	50	Ctrl
Q91ZI0	Cadherin EGF LAG seven-pass G-type receptor 3	48	Ctrl
P55284	Cadherin-5	83	Ctrl
A2AHC3	Calmodulin-regulated spectrin-associated protein 1	49	Ctrl
P35564	Calnexin	121	Ctrl
	cAMP-dependent protein kinase type II-alpha regulatory		
P12367	subunit	199	Ctrl
	cAMP-dependent protein kinase type II-beta regulatory		
P31324	subunit	305	Ctrl
Q05A80	Caprin-2	162	Ctrl
Q8K354	Carbonyl reductase [NADPH] 3	141	Ctrl
Q02248	Catenin beta-1	477	Ctrl
P30999	Catenin delta-1	115	Ctrl
Q63918	Caveolae-associated protein 2	297	Ctrl
P49817	Caveolin-1	1250	Ctrl
P51637	Caveolin-3	351	Ctrl
Q8R2Y2	Cell surface glycoprotein MUC18	36	Ctrl
Q7TSH4	Centriolar coiled-coil protein of 110 kDa	63	Ctrl
A2AUM9	Centrosomal protein of 152 kDa	39	Ctrl
Q3UPP8	Centrosomal protein of 63 kDa	81	Ctrl
Q9D7P7	Chloride intracellular channel protein 3	248	Ctrl
Q8B XK9	Chloride intracellular channel protein 5	171	Ctrl
Q8BHB9	Chloride intracellular channel protein 6	81	Ctrl
Q6PDQ2	Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 4	46	Ctrl
Q8C6S9	Cilia- and flagella-associated protein 54	129	Ctrl
Q9CZU6	Citrate synthase_ mitochondrial	93	Ctrl
Q06194	Coagulation factor VIII	19	Ctrl
Q8CDI7	Coiled-coil domain-containing protein 150	36	Ctrl
Q8CDV0	Coiled-coil domain-containing protein 178	46	Ctrl
P11087	Collagen alpha-1(I) chain	57	Ctrl
Q8R3I3	Conserved oligomeric Golgi complex subunit 6	178	Ctrl
Q9DC53	Copine-8	59	Ctrl
P56395	Cytochrome b5	1306	Ctrl
Q9CZ13	Cytochrome b-c1 complex subunit 1_ mitochondrial	72	Ctrl
Q9DB77	Cytochrome b-c1 complex subunit 2_ mitochondrial	173	Ctrl
Q9CR68	Cytochrome b-c1 complex subunit Rieske_ mitochondrial	173	Ctrl
Q62425	Cytochrome c oxidase subunit NDUFA4	252	Ctrl
O88487	Cytoplasmic dynein 1 intermediate chain 2	139	Ctrl
Q45VK7	Cytoplasmic dynein 2 heavy chain 1	43	Ctrl
Q7TMB8	Cytoplasmic FMR1-interacting protein 1	54	Ctrl
Q91V12	Cytosolic acyl coenzyme A thioester hydrolase	56	Ctrl

Q8BGW4	DDB1- and CUL4-associated factor 12-like protein 2	88	Ctrl
Q8BUR4	Dedicator of cytokinesis protein 1	91	Ctrl
Q9D7J6	Deoxyribonuclease-1-like 1	59	Ctrl
Q9R0P5	Dextrin	990	Ctrl
Q8BMF4	Dihydrolipoyllysine-residue acetyltransferase component of pyruvate dehydrogenase complex_ mitochondrial	68	Ctrl
Q8BVI4	Dihydropteridine reductase	104	Ctrl
Q8K2I3	Dimethylaniline monooxygenase [N-oxide-forming] 2	101	Ctrl
Q80YA7	Dipeptidyl peptidase 8	62	Ctrl
Q91ZV3	Discoidin_ CUB and LCCL domain-containing protein 2	49	Ctrl
P97310	DNA replication licensing factor MCM2	43	Ctrl
P25206	DNA replication licensing factor MCM3	58	Ctrl
Q6ZQF0	DNA topoisomerase 2-binding protein 1	74	Ctrl
Q9D483	DNA-directed RNA polymerase III subunit RPC3	70	Ctrl
Q9ERC8	Down syndrome cell adhesion molecule homolog	65	Ctrl
P39053	Dynamin-1	268	Ctrl
Q7TPV2	E3 ubiquitin-protein ligase DZIP3	38	Ctrl
Q8C863	E3 ubiquitin-protein ligase Itchy	39	Ctrl
Q810I2	E3 ubiquitin-protein ligase TRIM50	57	Ctrl
Q69ZW3	EH domain-binding protein 1	59	Ctrl
Q9WVK4	EH domain-containing protein 1	224	Ctrl
Q9QXY6	EH domain-containing protein 3	74	Ctrl
Q9EQP2	EH domain-containing protein 4	302	Ctrl
Q9DCW4	Electron transfer flavoprotein subunit beta	579	Ctrl
Q8BFR5	Elongation factor Tu_ mitochondrial	284	Ctrl
Q3TLP5	Enoyl-CoA hydratase domain-containing protein 2_ mitochondrial	74	Ctrl
Q8BH95	Enoyl-CoA hydratase_ mitochondrial	315	Ctrl
Q91WL0	Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 3	75	Ctrl
Q8CHU3	Epsin-2	247	Ctrl
Q60775	ETS-related transcription factor Elf-1	79	Ctrl
Q6KAR6	Exocyst complex component 3	57	Ctrl
Q8K368	Fanconi anemia group I protein homolog	173	Ctrl
Q91WJ8	Far upstream element-binding protein 1	95	Ctrl
Q7TQF2	F-box only protein 10	30	Ctrl
F8VPU2	FERM_ RhoGEF and pleckstrin domain-containing protein 1	44	Ctrl
Q8CIB5	Fermitin family homolog 2	220	Ctrl
Q3ULZ2	FH2 domain-containing protein 1	56	Ctrl
P16092	Fibroblast growth factor receptor 1	137	Ctrl
Q9WVH9	Fibulin-5	670	Ctrl
Q80X90	Filamin-B	40	Ctrl

Q8VHX6	Filamin-C	37	Ctrl
P97447	Four and a half LIM domains protein 1	155	Ctrl
P97807	Fumarate hydratase_ mitochondrial	158	Ctrl
Q8BWS5	G protein-regulated inducer of neurite outgrowth 3	49	Ctrl
	Galactosylgalactosylxylosylprotein 3-beta-		
Q9CW73	glucuronosyltransferase 1	106	Ctrl
P03995	Glial fibrillary acidic protein	125	Ctrl
P13745	Glutathione S-transferase A1	217	Ctrl
P10648	Glutathione S-transferase A2	217	Ctrl
P30115	Glutathione S-transferase A3	217	Ctrl
Q8CHG3	GRIP and coiled-coil domain-containing protein 2	83	Ctrl
	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T)		
P62874	subunit beta-1	158	Ctrl
	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T)		
P62880	subunit beta-2	53	Ctrl
Q61699	Heat shock protein 105 kDa	196	Ctrl
P14602	Heat shock protein beta-1	1552	Ctrl
O35737	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H	62	Ctrl
P70333	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H2	84	Ctrl
Q9D0E1	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein M	86	Ctrl
Q5SVQ0	Histone acetyltransferase KAT7	92	Ctrl
P68433	Histone H3.1	1207	Ctrl
P84228	Histone H3.2	1487	Ctrl
P84244	Histone H3.3	1984	Ctrl
P02301	Histone H3.3C	1984	Ctrl
Q60972	Histone-binding protein RBBP4	218	Ctrl
P97368	Homeobox protein Meis3	124	Ctrl
Q8R1H0	Homeodomain-only protein	428	Ctrl
Q08890	Iduronate 2-sulfatase	56	Ctrl
Q8VI75	Importin-4	109	Ctrl
P11881	Inositol 1_4_5-trisphosphate receptor type 1	216	Ctrl
Q60751	Insulin-like growth factor 1 receptor	21	Ctrl
Q61581	Insulin-like growth factor-binding protein 7	92	Ctrl
P09055	Integrin beta-1	93	Ctrl
O55222	Integrin-linked protein kinase	116	Ctrl
P13597	Intercellular adhesion molecule 1	160	Ctrl
P13504	Interleukin-1 receptor type 1	84	Ctrl
Q9Z0R4	Intersectin-1	90	Ctrl
Q5DU25	IQ motif and SEC7 domain-containing protein 2	92	Ctrl
Q61765	Keratin_ type I cuticular Ha1	58	Ctrl
Q62168	Keratin_ type I cuticular Ha2	70	Ctrl
Q61897	Keratin_ type I cuticular Ha3-II	48	Ctrl
Q49714	Keratin_ type I cuticular Ha5	70	Ctrl

B1AQ75	Keratin_ type I cuticular Ha6	70	Ctrl
P02535	Keratin_ type I cytoskeletal 10	70	Ctrl
P08730	Keratin_ type I cytoskeletal 13	70	Ctrl
Q61781	Keratin_ type I cytoskeletal 14	72	Ctrl
Q9QWL7	Keratin_ type I cytoskeletal 17	72	Ctrl
A1L317	Keratin_ type I cytoskeletal 24	70	Ctrl
A6BLY7	Keratin_ type I cytoskeletal 28	70	Ctrl
Q6IFX3	Keratin_ type I cytoskeletal 40	70	Ctrl
Q6IFX2	Keratin_ type I cytoskeletal 42	72	Ctrl
Q6IMF0	Keratin_ type II cuticular 87	125	Ctrl
Q9ERE2	Keratin_ type II cuticular Hb1	125	Ctrl
Q99M73	Keratin_ type II cuticular Hb4	150	Ctrl
Q9Z2T6	Keratin_ type II cuticular Hb5	125	Ctrl
P97861	Keratin_ type II cuticular Hb6	125	Ctrl
Q3UV17	Keratin_ type II cytoskeletal 2 oral	150	Ctrl
P07744	Keratin_ type II cytoskeletal 4	125	Ctrl
Q922U2	Keratin_ type II cytoskeletal 5	125	Ctrl
P50446	Keratin_ type II cytoskeletal 6A	150	Ctrl
Q9Z331	Keratin_ type II cytoskeletal 6B	150	Ctrl
Q9R0H5	Keratin_ type II cytoskeletal 71	116	Ctrl
Q6IFZ9	Keratin_ type II cytoskeletal 74	101	Ctrl
Q8BGZ7	Keratin_ type II cytoskeletal 75	150	Ctrl
Q8VED5	Keratin_ type II cytoskeletal 79	125	Ctrl
Q91WD7	Kinesin-like protein KIF18A	108	Ctrl
Q9D0F1	Kinetochore protein NDC80 homolog	71	Ctrl
P21619	Lamin-B2	50	Ctrl
Q61292	Laminin subunit beta-2	46	Ctrl
Q5S006	Leucine-rich repeat serine/threonine-protein kinase 2	39	Ctrl
Q3UH68	LIM and calponin homology domains-containing protein 1	114	Ctrl
P53395	Lipoamide acyltransferase component of branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase complex_ mitochondrial	88	Ctrl
Q8BFW7	Lipoma-preferred partner homolog	72	Ctrl
Q8VCC2	Liver carboxylesterase 1	28	Ctrl
Q6ZPY7	Lysine-specific demethylase 3B	40	Ctrl
P97873	Lysyl oxidase homolog 1	102	Ctrl
O08746	Matrilin-2	46	Ctrl
Q8K3F2	Matrix metalloproteinase-21	70	Ctrl
Q9EQJ9	Membrane-associated guanylate kinase_ WW and PDZ domain-containing protein 3	46	Ctrl
Q3UHE1	Membrane-associated phosphatidylinositol transfer protein 3	83	Ctrl
O08663	Methionine aminopeptidase 2	85	Ctrl
Q499X9	Methionine--tRNA ligase_ mitochondrial	121	Ctrl

Q9D1H9	Microfibril-associated glycoprotein 4	309	Ctrl
Q8VDV8	MIT domain-containing protein 1	70	Ctrl
Q80Y86	Mitogen-activated protein kinase 15	33	Ctrl
Q9WUL6	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 14	61	Ctrl
P09541	Myosin light chain 4	514	Ctrl
Q6PDN3	Myosin light chain kinase_ smooth muscle	43	Ctrl
Q9QVP4	Myosin regulatory light chain 2_ atrial isoform	152	Ctrl
Q5SX40	Myosin-1	238	Ctrl
P13541	Myosin-3	37	Ctrl
Q02566	Myosin-6	469	Ctrl
Q91Z83	Myosin-7	202	Ctrl
A2AQP0	Myosin-7B	180	Ctrl
Q8VEL2	Myotubularin-related protein 14	26	Ctrl
Q99LD8	N(G)_N(G)-dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2	230	Ctrl
Q9JHL1	Na(+)/H(+) exchange regulatory cofactor NHE-RF2	225	Ctrl
Q8R4H7	N-acetylglutamate synthase_ mitochondrial	199	Ctrl
Q8BKJ9	NAD-dependent protein deacetylase sirtuin-7	116	Ctrl
P37040	NADPH--cytochrome P450 reductase	65	Ctrl
P32507	Nectin-2	52	Ctrl
Q9CQ45	Neudesin	209	Ctrl
Q6P9K9	Neurexin-3	124	Ctrl
Q8BYM5	Neuroigin-3	177	Ctrl
P97333	Neuropilin-1	52	Ctrl
Q3UP87	Neutrophil elastase	140	Ctrl
Q8R1F1	Niban-like protein 1	284	Ctrl
O35710	Nocturnin	260	Ctrl
Q8K120	Nuclear factor of activated T-cells_ cytoplasmic 4	41	Ctrl
Q61937	Nucleophosmin	99	Ctrl
B2RRE7	OTU domain-containing protein 4	47	Ctrl
Q99NH2	Partitioning defective 3 homolog	129	Ctrl
Q8VI36	Paxillin	439	Ctrl
O70400	PDZ and LIM domain protein 1	735	Ctrl
Q8CEC6	Peptidylprolyl isomerase domain and WD repeat-containing protein 1	38	Ctrl
Q9DCN1	Peroxisomal NADH pyrophosphatase NUDT12	163	Ctrl
Q8VDD9	PH-interacting protein	153	Ctrl
Q8K212	Phosphofurin acidic cluster sorting protein 1	69	Ctrl
Q8VD65	Phosphoinositide 3-kinase regulatory subunit 4	91	Ctrl
P27612	Phospholipase A-2-activating protein	47	Ctrl
Q9Z280	Phospholipase D1	162	Ctrl
P55065	Phospholipid transfer protein	96	Ctrl
P98199	Phospholipid-transporting ATPase ID	245	Ctrl
P26618	Platelet-derived growth factor receptor alpha	117	Ctrl

Q6PDH0	Pleckstrin homology-like domain family B member 1	149	Ctrl
Q8K1N2	Pleckstrin homology-like domain family B member 2	48	Ctrl
Q6BCL1	PML-RARA-regulated adapter molecule 1	45	Ctrl
Q6P6P7	Poly [ADP-ribose] polymerase 6	35	Ctrl
P60335	Poly(rC)-binding protein 1	146	Ctrl
Q61990	Poly(rC)-binding protein 2	129	Ctrl
P57722	Poly(rC)-binding protein 3	129	Ctrl
P57724	Poly(rC)-binding protein 4	221	Ctrl
Q8C7U7	Polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 6	48	Ctrl
P17225	Polypyrimidine tract-binding protein 1	270	Ctrl
P97438	Potassium channel subfamily K member 2	106	Ctrl
P63141	Potassium voltage-gated channel subfamily A member 2	82	Ctrl
O88704	Potassium/sodium hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel 1	63	Ctrl
Q64436	Potassium-transporting ATPase alpha chain 1	47	Ctrl
Q3U186	Probable arginine--tRNA ligase_ mitochondrial	89	Ctrl
Q9DBN9	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX59	56	Ctrl
Q7TNG8	Probable D-lactate dehydrogenase_ mitochondrial	69	Ctrl
O54824	Pro-interleukin-16	48	Ctrl
Q0KK56	Protein FAM184B	59	Ctrl
Q6GQV1	Protein FAM196B	93	Ctrl
Q8CG73	Protein fantom	419	Ctrl
Q5SXA9	Protein KIBRA	52	Ctrl
Q8BI08	Protein MAL2	83	Ctrl
O35618	Protein Mdm4	162	Ctrl
C3VPR6	Protein NLRC5	248	Ctrl
P08207	Protein S100-A10	595	Ctrl
Q80U72	Protein scribble homolog	64	Ctrl
Q80UZ2	Protein SDA1 homolog	61	Ctrl
Q1W617	Protein Shroom4	68	Ctrl
Q2PZL6	Protocadherin Fat 4	25	Ctrl
P35242	Pulmonary surfactant-associated protein A	202	Ctrl
Q80TZ3	Putative tyrosine-protein phosphatase auxilin	34	Ctrl
Q4VA55	PWWP domain-containing protein MUM1L1	118	Ctrl
Q9D051	Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta_ mitochondrial	95	Ctrl
Q3UFY4	Radial spoke head protein 3 homolog A	49	Ctrl
Q8C2K5	RAS protein activator like-3	84	Ctrl
P68040	Receptor of activated protein C kinase 1	113	Ctrl
P58801	Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 2	68	Ctrl
Q00342	Receptor-type tyrosine-protein kinase FLT3	25	Ctrl
Q8BHL4	Retinoic acid-induced protein 3	481	Ctrl
P18653	Ribosomal protein S6 kinase alpha-1	97	Ctrl

Q9WUT3	Ribosomal protein S6 kinase alpha-2	71	Ctrl
P18654	Ribosomal protein S6 kinase alpha-3	90	Ctrl
Q7TPS0	Ribosomal protein S6 kinase alpha-6	106	Ctrl
Q3TEL6	RING finger protein 157	49	Ctrl
Q8BFU3	RING finger protein 214	93	Ctrl
Q3UZ01	RNA-binding protein 40	121	Ctrl
Q8CJ40	Rootletin	136	Ctrl
A7TZE6	Selection and upkeep of intraepithelial T-cells protein 1	104	Ctrl
O09126	Semaphorin-4D	92	Ctrl
Q7TSE6	Serine/threonine-protein kinase 38-like	50	Ctrl
Q80UE6	Serine/threonine-protein kinase WNK4	51	Ctrl
	Serine/threonine-protein phosphatase 2A 65 kDa		
Q76MZ3	regulatory subunit A alpha isoform	57	Ctrl
	Serine/threonine-protein phosphatase 2A regulatory		
Q9JK24	subunit B" subunit gamma	104	Ctrl
P19324	Serpin H1	305	Ctrl
Q8VDT1	Sodium/glucose cotransporter 4	58	Ctrl
Q8VDN2	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-1	58	Ctrl
Q6PIE5	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-2	51	Ctrl
Q6PIC6	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-3	38	Ctrl
Q9WV27	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-4	42	Ctrl
Q504N2	Solute carrier family 22 member 15	64	Ctrl
Q9QYY8	Spastin	85	Ctrl
Q8BI29	Specifically androgen-regulated gene protein	45	Ctrl
Q9JF2	Sperm-associated antigen 4 protein	64	Ctrl
P52019	Squalene monooxygenase	55	Ctrl
Q8CG47	Structural maintenance of chromosomes protein 4	38	Ctrl
Q8CHC4	Synaptojanin-1	177	Ctrl
Q9D2G5	Synaptojanin-2	104	Ctrl
P80318	T-complex protein 1 subunit gamma	83	Ctrl
Q8CGB6	Tensin-2	47	Ctrl
Q5SSZ5	Tensin-3	37	Ctrl
F8VPN2	Testis-expressed protein 15	28	Ctrl
Q8R3G9	Tetraspanin-8	200	Ctrl
P20108	Thioredoxin-dependent peroxide reductase_ mitochondrial	520	Ctrl
P52196	Thiosulfate sulfurtransferase	174	Ctrl
P15306	Thrombomodulin	124	Ctrl
P39447	Tight junction protein ZO-1	45	Ctrl
Q9Z0U1	Tight junction protein ZO-2	54	Ctrl
Q60803	TNF receptor-associated factor 3	70	Ctrl
P70399	TP53-binding protein 1	233	Ctrl
O55201	Transcription elongation factor SPT5	44	Ctrl
O54917	Transcription factor E2F6	90	Ctrl

Q7TT00	Transcription factor SPT20 homolog	463	Ctrl
Q80YV3	Transformation/transcription domain-associated protein	24	Ctrl
	Transient receptor potential cation channel subfamily M		
Q7TN37	member 4	154	Ctrl
Q8R1V4	Transmembrane emp24 domain-containing protein 4	249	Ctrl
Q99KF1	Transmembrane emp24 domain-containing protein 9	406	Ctrl
Q8BGN6	Transmembrane gamma-carboxyglutamic acid protein 4	133	Ctrl
P07309	Transthyretin	251	Ctrl
Q9ESN6	Tripartite motif-containing protein 2	58	Ctrl
Q9JHJ0	Tropomodulin-3	94	Ctrl
Q9Z138	Tyrosine-protein kinase transmembrane receptor ROR2	70	Ctrl
Q6A4J8	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 7	77	Ctrl
Q6P5E4	UDP-glucose:glycoprotein glucosyltransferase 1	290	Ctrl
Q6DI92	Uncharacterized protein C19orf68 homolog	134	Ctrl
Q9WTI7	Unconventional myosin-Ic	100	Ctrl
Q5SYD0	Unconventional myosin-Id	71	Ctrl
P97479	Unconventional myosin-VIIa	68	Ctrl
Q06318	Uteroglobin	1501	Ctrl
Q0P5W1	Vacuolar protein sorting-associated protein 8 homolog	54	Ctrl
P35917	Vascular endothelial growth factor receptor 3	31	Ctrl
Q9R1Z8	Vinexin	59	Ctrl
Q91V10	Visual system homeobox 1	146	Ctrl
	Voltage-dependent N-type calcium channel subunit alpha-		
O55017	1B	86	Ctrl
Q6PGL7	WASH complex subunit 2	33	Ctrl
Q8K1X1	WD repeat-containing protein 11	85	Ctrl
Q6NVE8	WD repeat-containing protein 44	79	Ctrl
Q9D0R9	WD repeat-containing protein 89	152	Ctrl
Q91VN1	Zinc finger protein 24	67	Ctrl
Q99LI5	Zinc finger protein 281	69	Ctrl
Q6KAS7	Zinc finger protein 521	56	Ctrl
Q61464	Zinc finger protein 638	60	Ctrl
Q8BH05	Zinc finger protein 750	58	Ctrl
Q8BMQ3	Zinc finger protein basoon-2	201	Ctrl
Q0VGT2	Zinc finger protein GLI2	154	Ctrl

^a Identification is based on proteins ID from UniProt protein database. reviewed only (<http://www.uniprot.org>).

^b Proteins with expression significantly altered are organized according to the ratio.

* Indicates unique proteins in alphabetical order

APENDICE III

Tabela 2. Proteins with expression significantly altered in the lung of *P. brasiliensis* infected mice (FP-PCM group) and Bleomycin treated mice (FP-BLM group).

^a Access Number	Protein name	PLGS score	^b Ratio FP-PCM: FP-BLM
O08807	Peroxiredoxin-4	104	16.28
P35700	Peroxiredoxin-1	914	10.07
P06467	Hemoglobin subunit zeta	393	9.39
Q8C8R3	Ankyrin-2	129	8.00
P70696	Histone H2B type 1-A	167	6.05
P01864	Ig gamma-2A chain C region secreted form	197	5.99
P16858	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	185	5.81
Q64467	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase_ testis-specific	33	5.37
Q61233	Plastin-2	35	4.90
P53657	Pyruvate kinase PKLR	13	4.90
P14211	Calreticulin	151	4.81
P52480	Pyruvate kinase PKM	365	4.71
P17182	Alpha-enolase	1439	4.62
Q9DBJ1	Phosphoglycerate mutase 1	131	4.39
P10107	Annexin A1	252	4.26
Q60930	Voltage-dependent anion-selective channel protein 2	91	4.26
P05063	Fructose-bisphosphate aldolase C	74	4.22
Q8CGP5	Histone H2A type 1-F	388	3.97
Q8CGP7	Histone H2A type 1-K	388	3.97
Q64523	Histone H2A type 2-C	388	3.97
Q9CQN1	Heat shock protein 75 kDa_ mitochondrial	425	3.94
C0HKE3	Histone H2A type 1-D	388	3.94
C0HKE6	Histone H2A type 1-I	388	3.94
C0HKE8	Histone H2A type 1-O	388	3.94
C0HKE9	Histone H2A type 1-P	388	3.94
Q6GSS7	Histone H2A type 2-A	388	3.94
P99029	Peroxiredoxin-5_ mitochondrial	197	3.94
Q99JY9	Actin-related protein 3	406	3.90
C0HKE1	Histone H2A type 1-B	388	3.90
C0HKE2	Histone H2A type 1-C	388	3.90

Q8CGP			
6	Histone H2A type 1-H	388	3.90
C0HKE			
7	Histone H2A type 1-N	388	3.90
Q8BFU			
2	Histone H2A type 3	388	3.90
P10126	Elongation factor 1-alpha 1	138	3.82
P08113	Endoplasmin	149	3.82
C0HKE			
4	Histone H2A type 1-E	388	3.82
C0HKE			
5	Histone H2A type 1-G	405	3.82
Q8R1M			
2	Histone H2A.J	388	3.82
P17751	Triosephosphate isomerase	255	3.67
Q3THW			
5	Histone H2A.V OS=Mus musculus GN=PE=1 SV=3	150	3.63
Q64522	Histone H2A type 2-B	150	3.60
P27661	Histone H2AX	150	3.60
P09411	Phosphoglycerate kinase 1	117	3.60
P0C0S6	Histone H2A.Z	150	3.56
P01865	Ig gamma-2A chain C region_ membrane-bound form	381	3.56
P06151	L-lactate dehydrogenase A chain	385	3.53
P20029	78 kDa glucose-regulated protein	220	3.39
P09041	Phosphoglycerate kinase 2	72	3.39
P62962	Profilin-1	1328	3.35
P20152	Vimentin	144	3.35
P62806	Histone H4	194	3.32
P01863	Ig gamma-2A chain C region_ A allele	381	3.25
P60710	Actin_ cytoplasmic 1	14975	3.03
P0DP26	Calmodulin-1	1201	2.94
P0DP27	Calmodulin-2	1201	2.94
P0DP28	Calmodulin-3	1201	2.94
P07901	Heat shock protein HSP 90-alpha	401	2.92
P63260	Actin_ cytoplasmic 2	14975	2.89
P05064	Fructose-bisphosphate aldolase A	254	2.86
P62631	Elongation factor 1-alpha 2	88	2.83
Q91VI7	Ribonuclease inhibitor	249	2.83
P00342	L-lactate dehydrogenase C chain	157	2.80
P02104	Hemoglobin subunit epsilon-Y2	325	2.72
P27773	Protein disulfide-isomerase A3	127	2.64
P40142	Transketolase	147	2.61
P19246	Neurofilament heavy polypeptide	37	2.51
Q64478	Histone H2B type 1-H	229	2.48

Q8CGP			
1	Histone H2B type 1-K	229	2.48
P10854	Histone H2B type 1-M	229	2.48
Q64475	Histone H2B type 1-B	229	2.46
Q6ZWY			
9	Histone H2B type 1-C/E/G	229	2.46
P10853	Histone H2B type 1-F/J/L	229	2.46
Q8CGP			
2	Histone H2B type 1-P	229	2.46
Q64525	Histone H2B type 2-B	229	2.46
Q64524	Histone H2B type 2-E	229	2.46
Q9D2U			
9	Histone H2B type 3-A	229	2.46
Q8CGP			
0	Histone H2B type 3-B	229	2.46
P08551	Neurofilament light polypeptide	37	2.46
P08553	Neurofilament medium polypeptide	37	2.46
Q61696	Heat shock 70 kDa protein 1A	85	2.41
P11499	Heat shock protein HSP 90-beta	951	2.41
P18760	Cofilin-1	360	2.39
Q8VEK			
3	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U	76	2.39
P40124	Adenylyl cyclase-associated protein 1	711	2.36
P07758	Alpha-1-antitrypsin 1-1	140	2.36
P22599	Alpha-1-antitrypsin 1-2	129	2.36
Q00897	Alpha-1-antitrypsin 1-4	129	2.36
P46735	Unconventional myosin-Ib	94	2.36
Q00896	Alpha-1-antitrypsin 1-3	140	2.34
P17879	Heat shock 70 kDa protein 1B	85	2.34
P16627	Heat shock 70 kDa protein 1-like	85	2.32
Q8VDD			
5	Myosin-9	78	2.27
P46660	Alpha-internexin	52	2.25
Q99K51	Plastin-3	48	2.25
P16125	L-lactate dehydrogenase B chain	212	2.25
P15331	Peripherin	59	2.18
P68510	14-3-3 protein eta	68	2.14
Q9CQV			
8	14-3-3 protein beta/alpha	68	2.10
P68254	14-3-3 protein theta	68	2.05
P48036	Annexin A5	305	2.05
P19096	Fatty acid synthase	100	2.03
P61982	14-3-3 protein gamma	82	2.01
P31001	Desmin	151	2.01

Q9JI91	Alpha-actinin-2	257	1.99
P41230	Lysine-specific demethylase 5C	148	1.97
O70456	14-3-3 protein sigma	68	1.95
Q9Z2X1	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein F	126	1.95
P29758	Ornithine aminotransferase_ mitochondrial	174	1.93
P63017	Heat shock cognate 71 kDa protein	488	1.90
P17156	Heat shock-related 70 kDa protein 2	221	1.88
P32921	Tryptophan--tRNA ligase_ cytoplasmic	70	1.88
Q03265	ATP synthase subunit alpha_ mitochondrial	86	1.86
Q8BFZ3	Beta-actin-like protein 2	2543	1.86
P08249	Malate dehydrogenase_ mitochondrial	323	1.86
P47955	60S acidic ribosomal protein P1	873	1.82
P01868	Ig gamma-1 chain C region secreted form	509	1.82
P01869	Ig gamma-1 chain C region_ membrane-bound form	509	1.80
P68134	Actin_ alpha skeletal muscle	8173	1.79
P62259	14-3-3 protein epsilon	239	1.77
Q80X76	Serine protease inhibitor A3F	1109	1.75
P45591	Cofilin-2	198	1.73
Q61414	Keratin_ type I cytoskeletal 15	112	1.73
Q61879	Myosin-10	26	1.72
Q01853	Transitional endoplasmic reticulum ATPase	62	1.72
Q8BWT1	3-ketoacyl-CoA thiolase_ mitochondrial	258	1.70
P63101	14-3-3 protein zeta/delta	1076	1.68
P21981	Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase 2	120	1.68
Q9CQ19	Myosin regulatory light polypeptide 9	291	1.65
P68033	Actin_ alpha cardiac muscle 1	8266	1.62
P63268	Actin_ gamma-enteric smooth muscle	8256	1.58
P11679	Keratin_ type II cytoskeletal 8	59	1.58
P62737	Actin_ aortic smooth muscle	8256	1.57
P70296	Phosphatidylethanolamine-binding protein 1	599	1.55
Q62465	Synaptic vesicle membrane protein VAT-1 homolog	206	1.54
P14152	Malate dehydrogenase_ cytoplasmic	263	1.52
P28665	Murinoglobulin-1	288	1.52
Q8BTM8	Filamin-A	185	1.45
P15532	Nucleoside diphosphate kinase A	2083	1.42
P07759	Serine protease inhibitor A3K	1813	1.40
O08638	Myosin-11	53	1.40
Q7TPR4	Alpha-actinin-1	420	1.39
Q03734	Serine protease inhibitor A3M	1390	1.39
P68368	Tubulin alpha-4A chain	50	1.38

Q3THE			
2	Myosin regulatory light chain 12B	921	1.36
Q01768	Nucleoside diphosphate kinase B	2008	1.36
P17742	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	439	1.35
P29621	Serine protease inhibitor A3C	1390	1.34
Q91WP			
6	Serine protease inhibitor A3N	1390	1.34
P05213	Tubulin alpha-1B chain	153	1.34
Q5I2A0	Serine protease inhibitor A3G	1390	1.32
Q921I1	Serotransferrin	1292	1.31
P05214	Tubulin alpha-3 chain	57	1.30
P68369	Tubulin alpha-1A chain	143	1.28
P68373	Tubulin alpha-1C chain	143	1.27
P07356	Annexin A2	355	1.26
O35639	Annexin A3	586	1.23
Q9JJZ2	Tubulin alpha-8 chain	38	1.22
P57780	Alpha-actinin-4	564	1.21
P26040	Ezrin	105	1.20
P01942	Hemoglobin subunit alpha	8662	1.20
P26041	Moesin	435	1.17
Q9CWF			
2	Tubulin beta-2B chain	6723	1.17
P26043	Radixin	175	1.15
P99024	Tubulin beta-5 chain	33	1.12
Q7TMM			
9	Tubulin beta-2A chain	6723	1.08
Q9ERD			
7	Tubulin beta-3 chain	33	1.07
Q02053	Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 1	65	0.13
Q62151	Advanced glycosylation end product-specific receptor	568	0.32
Q04857	Collagen alpha-1(VI) chain	101	0.34
Q8BZN			
6	Dedicator of cytokinesis protein 10	119	0.38
P02088	Hemoglobin subunit beta-1	10143	0.40
P40936	Indolethylamine N-methyltransferase	229	0.43
P17563	Selenium-binding protein 1	332	0.46
Q63836	Selenium-binding protein 2	311	0.47
E9Q555	E3 ubiquitin-protein ligase RNF213	16	0.48
O08709	Peroxiredoxin-6	560	0.49
Q9R1Q8	Transgelin-3	412	0.51
P02089	Hemoglobin subunit beta-2	2809	0.52
P02769	Serum albumin	259	0.53
Q8BH64	EH domain-containing protein 2	461	0.53
P08074	Carbonyl reductase [NADPH] 2	2388	0.55

Q08857	Platelet glycoprotein 4	361	0.58
P29699	Alpha-2-HS-glycoprotein	307	0.59
Q64727	Vinculin	519	0.59
O35945	Aldehyde dehydrogenase_ cytosolic 1	149	0.60
Q02788	Collagen alpha-2(VI) chain	80	0.61
P24549	Retinal dehydrogenase 1	276	0.61
P23953	Carboxylesterase 1C	27	0.62
P10493	Nidogen-1	131	0.64
Q9DCT8	Cysteine-rich protein 2	1397	0.66
P16546	Spectrin alpha chain_ non-erythrocytic 1	367	0.66
O54724	Caveolae-associated protein 1	123	0.68
Q62188	Dihydropyrimidinase-related protein 3	56	0.68
Q9CZS1	Aldehyde dehydrogenase X_ mitochondrial	43	0.69
Q9R069	Basal cell adhesion molecule	483	0.70
Q8VCT4	Carboxylesterase 1D	171	0.70
P10649	Glutathione S-transferase Mu 1	2087	0.70
O08553	Dihydropyrimidinase-related protein 2	107	0.70
Q62261	Spectrin beta chain_ non-erythrocytic 1	45	0.73
P11276	Fibronectin	397	0.73
P47738	Aldehyde dehydrogenase_ mitochondrial	124	0.75
Q80W21	Glutathione S-transferase Mu 7	1078	0.76
Q6URW6	Myosin-14	56	0.76
P15626	Glutathione S-transferase Mu 2	1078	0.76
P19001	Keratin_ type I cytoskeletal 19	104	0.77
P40935	Phenylethanolamine N-methyltransferase	137	0.79
P26039	Talin-1	476	0.79
P08228	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	136	0.82
P48678	Prelamin-A/C	130	0.83
Q8CI43	Myosin light chain 6B	951	0.84
Q61171	Peroxiredoxin-2	577	0.84
Q9DCT1	1_5-anhydro-D-fructose reductase	41	FP-PCM
	116 kDa U5 small nuclear ribonucleoprotein component		
O08810		185	FP-PCM
Q8BJY1	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 5	91	FP-PCM
Q60597	2-oxoglutarate dehydrogenase_ mitochondrial	43	FP-PCM
P63323	40S ribosomal protein S12	216	FP-PCM
P63276	40S ribosomal protein S17	248	FP-PCM
P62908	40S ribosomal protein S3	482	FP-PCM
P62082	40S ribosomal protein S7	297	FP-PCM

P14206	40S ribosomal protein SA	696	FP-PCM
Q9JLJ2	4-trimethylaminobutyraldehyde dehydrogenase	74	FP-PCM
P14869	60S acidic ribosomal protein P0	514	FP-PCM
P99027	60S acidic ribosomal protein P2	264	FP-PCM
Q9DCD0	6-phosphogluconate dehydrogenase_ decarboxylating	83	FP-PCM
Q9CQ60	6-phosphogluconolactonase	558	FP-PCM
E9Q4Z2	Acetyl-CoA carboxylase 2	32	FP-PCM
Q9EST5	Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member B	130	FP-PCM
P61161	Actin-related protein 2	359	FP-PCM
Q9WV32	Actin-related protein 2/3 complex subunit 1B	437	FP-PCM
Q9JM76	Actin-related protein 2/3 complex subunit 3	454	FP-PCM
P59999	Actin-related protein 2/3 complex subunit 4	428	FP-PCM
Q641P0	Actin-related protein 3B	63	FP-PCM
Q80US4	Actin-related protein 5	105	FP-PCM
P31786	Acyl-CoA-binding protein	477	FP-PCM
Q3UNX5	Acyl-coenzyme A synthetase ACSM3_ mitochondrial	71	FP-PCM
Q61315	Adenomatous polyposis coli protein	55	FP-PCM
P84078	ADP-ribosylation factor 1	776	FP-PCM
Q8BSL7	ADP-ribosylation factor 2	776	FP-PCM
P61205	ADP-ribosylation factor 3	776	FP-PCM
P61750	ADP-ribosylation factor 4	776	FP-PCM
P84084	ADP-ribosylation factor 5	776	FP-PCM
Q8JZQ2	AFG3-like protein 2	58	FP-PCM
Q9JII6	Alcohol dehydrogenase [NADP(+)]	74	FP-PCM
P28474	Alcohol dehydrogenase class-3	477	FP-PCM
Q8VC28	Aldo-keto reductase family 1 member C13	87	FP-PCM
Q00898	Alpha-1-antitrypsin 1-5	47	FP-PCM
P97384	Annexin A11	78	FP-PCM
P97429	Annexin A4	278	FP-PCM
Q8K2H4	Arf-GAP with coiled-coil_ ANK repeat and PH domain-containing protein 1	76	FP-PCM
Q61176	Arginase-1	114	FP-PCM
P16460	Argininosuccinate synthase	188	FP-PCM
A2AU72	Armadillo repeat-containing protein 3	53	FP-PCM
P05202	Aspartate aminotransferase_ mitochondrial	83	FP-PCM
Q9QWK5	Baculoviral IAP repeat-containing protein 1a	57	FP-PCM
O88738	Baculoviral IAP repeat-containing protein 6	18	FP-PCM
P01887	Beta-2-microglobulin	519	FP-PCM

P21550	Beta-enolase	84	FP-PCM
O35490	Betaine--homocysteine S-methyltransferase 1	47	FP-PCM
O08524	Beta-tectorin	109	FP-PCM
P48754	Breast cancer type 1 susceptibility protein homolog	123	FP-PCM
P97929	Breast cancer type 2 susceptibility protein homolog	32	FP-PCM
Q6AZB0	Brother of CDO	55	FP-PCM
Q922D8	C-1-tetrahydrofolate synthase_ cytoplasmic	70	FP-PCM
Q9D6P8	Calmodulin-like protein 3	64	FP-PCM
O35350	Calpain-1 catalytic subunit	52	FP-PCM
O89084	cAMP-specific 3'_5'-cyclic phosphodiesterase 4A	52	FP-PCM
Q8C196	Carbamoyl-phosphate synthase [ammonia]_ mitochondrial	107	FP-PCM
Q91WU0	Carboxylesterase 1F	38	FP-PCM
P26231	Catenin alpha-1	81	FP-PCM
P18242	Cathepsin D	1427	FP-PCM
O70370	Cathepsin S	730	FP-PCM
Q9WUU7	Cathepsin Z	149	FP-PCM
P60766	Cell division control protein 42 homolog	740	FP-PCM
Q9Z0H0	Cell division cycle 7-related protein kinase	172	FP-PCM
A2AL36	Centriolin	61	FP-PCM
Q9CZW2	Centromere protein N	59	FP-PCM
Q5PR68	Centrosomal protein of 112 kDa	131	FP-PCM
Q5DU05	Centrosomal protein of 164 kDa	20	FP-PCM
Q6A065	Centrosomal protein of 170 kDa	283	FP-PCM
Q80U49	Centrosomal protein of 170 kDa protein B	108	FP-PCM
Q9CZX2	Centrosomal protein of 89 kDa	104	FP-PCM
Q8CG03	cGMP-specific 3'_5'-cyclic phosphodiesterase	33	FP-PCM
Q9Z1Q5	Chloride intracellular channel protein 1	215	FP-PCM
Q6AW69	Cingulin-like protein 1	70	FP-PCM
P79568	Class Ib MHC antigen Qa-2	262	FP-PCM
Q9CQI6	Coactosin-like protein	341	FP-PCM
Q8CIE6	Coatomer subunit alpha	31	FP-PCM
Q9JIF7	Coatomer subunit beta 1	66	FP-PCM
O55029	Coatomer subunit beta'	49	FP-PCM
Q8C5V8	Coiled-coil domain-containing protein 187	55	FP-PCM
Q8BVF4	Coiled-coil domain-containing protein 30	31	FP-PCM

Q923P0	Collagen alpha-1(XX) chain	56	FP-PCM
P01027	Complement C3	64	FP-PCM
Q9CPW0	Contactin-associated protein-like 2	28	FP-PCM
O08997	Copper transport protein ATOX1	1386	FP-PCM
O89053	Coronin-1A	1092	FP-PCM
Q91X84	CREB-regulated transcription coactivator 3	44	FP-PCM
Q91WA4	CXXC-type zinc finger protein 5	39	FP-PCM
Q99KY4	Cyclin-G-associated kinase OS=Mus musculus GN=PE=1 SV=2	194	FP-PCM
Q62426	Cystatin-B	608	FP-PCM
P00405	Cytochrome c oxidase subunit 2	443	FP-PCM
P19783	Cytochrome c oxidase subunit 4 isoform 1_ mitochondrial	346	FP-PCM
P12787	Cytochrome c oxidase subunit 5A_ mitochondrial	321	FP-PCM
P33267	Cytochrome P450 2F2	51	FP-PCM
O08967	Cytohesin-3	95	FP-PCM
Q9JHU4	Cytoplasmic dynein 1 heavy chain 1	40	FP-PCM
Q9CPY7	Cytosol aminopeptidase	122	FP-PCM
Q8BX80	Cytosolic endo-beta-N-acetylglucosaminidase	70	FP-PCM
Q9D1A2	Cytosolic non-specific dipeptidase	264	FP-PCM
Q80XN0	D-beta-hydroxybutyrate dehydrogenase_ mitochondrial	78	FP-PCM
Q6P5E8	Diacylglycerol kinase theta	83	FP-PCM
E9Q9R9	Disks large homolog 5	37	FP-PCM
Q8CFD5	DNA excision repair protein ERCC-8	206	FP-PCM
P97386	DNA ligase 3	39	FP-PCM
P49717	DNA replication licensing factor MCM4	43	FP-PCM
Q9DBG6	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 2	115	FP-PCM
Q8BYH0	Dorsal root ganglia homeobox protein	90	FP-PCM
Q4VA61	Down syndrome cell adhesion molecule-like protein 1 homolog	66	FP-PCM
Q4U2R1	E3 ubiquitin-protein ligase HERC2	269	FP-PCM
Q8C669	E3 ubiquitin-protein ligase pellino homolog 1	95	FP-PCM
O88196	E3 ubiquitin-protein ligase TTC3	177	FP-PCM
P58252	Elongation factor 2	316	FP-PCM
Q3UVK0	Endoplasmic reticulum metalloproteinase 1	59	FP-PCM

Q9D1Q			
6	Endoplasmic reticulum resident protein 44	111	FP-PCM
P49290	Eosinophil peroxidase	57	FP-PCM
P42567	Epidermal growth factor receptor substrate 15	62	FP-PCM
Q9Z0J0	Epididymal secretory protein E1	471	FP-PCM
P60843	Eukaryotic initiation factor 4A-I	1040	FP-PCM
P10630	Eukaryotic initiation factor 4A-II	1040	FP-PCM
Q91VC3	Eukaryotic initiation factor 4A-III	896	FP-PCM
Q9QZ11	Exonuclease 1	228	Pb
Q6P5F9	Exportin-1	40	FP-PCM
P47753	F-actin-capping protein subunit alpha-1	241	FP-PCM
P47754	F-actin-capping protein subunit alpha-2	342	FP-PCM
P47757	F-actin-capping protein subunit beta	1259	FP-PCM
Q05816	Fatty acid-binding protein_ epidermal	508	FP-PCM
P12710	Fatty acid-binding protein_ liver	634	FP-PCM
Q8K0E8	Fibrinogen beta chain	461	FP-PCM
Q8VCM			
7	Fibrinogen gamma chain	249	FP-PCM
A6PWD			
2	Forkhead-associated domain-containing protein 1	125	FP-PCM
Q91XD			
4	Formimidoyltransferase-cyclodeaminase	49	FP-PCM
Q8VDC			
1	FYVE and coiled-coil domain-containing protein 1	64	FP-PCM
P16045	Galectin-1	570	FP-PCM
P16110	Galectin-3	459	FP-PCM
P17183	Gamma-enolase	161	FP-PCM
Q8JZP9	GAS2-like protein 1	74	FP-PCM
Q9ESZ8	General transcription factor II-I	50	FP-PCM
	General transcription factor II-I repeat domain-		
Q9JI57	containing protein 1	90	FP-PCM
	General transcription factor II-I repeat domain-		
Q99NI3	containing protein 2	65	FP-PCM
P06745	Glucose-6-phosphate isomerase	156	FP-PCM
Q8BML			
9	GlutaminyI-tRNA synthetase	79	FP-PCM
P11352	Glutathione peroxidase 1	962	FP-PCM
P46425	Glutathione S-transferase P 2	62	FP-PCM
Q64521	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase_ mitochondrial	62	FP-PCM
Q8VDU			
0	G-protein-signaling modulator 2	105	FP-PCM
P62827	GTP-binding nuclear protein Ran	178	FP-PCM
	Guanine nucleotide-binding protein G(i) subunit alpha-		
B2RSH2	1	138	FP-PCM

P08752	Guanine nucleotide-binding protein G(i) subunit alpha-2	596	FP-PCM
Q9DC51	Guanine nucleotide-binding protein G(k) subunit alpha	84	FP-PCM
P18872	Guanine nucleotide-binding protein G(o) subunit alpha	65	FP-PCM
Q8CGK7	Guanine nucleotide-binding protein G(olf) subunit alpha	94	FP-PCM
P63094	Guanine nucleotide-binding protein G(s) subunit alpha isoforms short	65	FP-PCM
P20612	Guanine nucleotide-binding protein G(t) subunit alpha-1	84	FP-PCM
P50149	Guanine nucleotide-binding protein G(t) subunit alpha-2	84	FP-PCM
Q3V3I2	Guanine nucleotide-binding protein G(t) subunit alpha-3	84	FP-PCM
P27600	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-12	65	FP-PCM
P27601	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-13	69	FP-PCM
P06339	H-2 class I histocompatibility antigen_ D-37 alpha chain	64	FP-PCM
P01900	H-2 class I histocompatibility antigen_ D-D alpha chain	289	FP-PCM
P01901	H-2 class I histocompatibility antigen_ K-B alpha chain	262	FP-PCM
P01897	H-2 class I histocompatibility antigen_ L-D alpha chain	262	FP-PCM
P01898	H-2 class I histocompatibility antigen_ Q10 alpha chain	262	FP-PCM
P14429	H-2 class I histocompatibility antigen_ Q7 alpha chain	262	FP-PCM
P14430	H-2 class I histocompatibility antigen_ Q8 alpha chain	262	FP-PCM
P14432	H-2 class I histocompatibility antigen_ TLA(B) alpha chain	64	FP-PCM
P14483	H-2 class II histocompatibility antigen_ A beta chain	247	FP-PCM
P04228	H-2 class II histocompatibility antigen_ A-D alpha chain	340	FP-PCM
P01921	H-2 class II histocompatibility antigen_ A-D beta chain	246	FP-PCM
P18469	H-2 class II histocompatibility antigen_ I-E beta chain	34	FP-PCM
Q61646	Haptoglobin	221	FP-PCM
Q61316	Heat shock 70 kDa protein 4	99	FP-PCM
Q99020	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A/B	58	FP-PCM
Q60668	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D0	513	FP-PCM
Q9Z130	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D-like	58	FP-PCM
O88569	Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins A2/B1	124	FP-PCM
Q3TRM8	Hexokinase-3	219	FP-PCM
Q8C2B3	Histone deacetylase 7	43	FP-PCM
P79457	Histone demethylase UTY	1072	FP-PCM
P10629	Homeobox protein Hox-C6	134	FP-PCM
Q9JKR6	Hypoxia up-regulated protein 1	188	FP-PCM
P01878	Ig alpha chain C region	496	FP-PCM

P01867	Ig gamma-2B chain C region	789	FP-PCM
P06330	Ig heavy chain V region AC38 205.12	396	FP-PCM
P01757	Ig heavy chain V region J558	396	FP-PCM
P01756	Ig heavy chain V region MOPC 104E	396	FP-PCM
P01723	Ig lambda-1 chain V region	295	FP-PCM
P01727	Ig lambda-1 chain V region S43	295	FP-PCM
Q8BL06	Inactive ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 54	46	FP-PCM
Q9Z329	Inositol 1_4_5-trisphosphate receptor type 2	35	FP-PCM
B8JK39	Integrin alpha-9	53	FP-PCM
P11835	Integrin beta-2	75	FP-PCM
Q61098	Interleukin-18 receptor 1	81	FP-PCM
P24822	Intestinal-type alkaline phosphatase	85	FP-PCM
P54071	Isocitrate dehydrogenase [NADP]_ mitochondrial	152	FP-PCM
Q69ZS8	Kazrin	100	FP-PCM
A2APT9	Kelch domain-containing protein 7A	42	FP-PCM
Q9Z2K1	Keratin_ type I cytoskeletal 16	49	FP-PCM
Q61595	Kinectin	128	FP-PCM
P28738	Kinesin heavy chain isoform 5C	32	FP-PCM
Q99PT9	Kinesin-like protein KIF19	81	FP-PCM
P33173	Kinesin-like protein KIF1A	173	FP-PCM
Q9QWT9	Kinesin-like protein KIFC1	47	FP-PCM
P08071	Lactotransferrin	230	FP-PCM
Q61092	Laminin subunit gamma-2	81	FP-PCM
Q8R4U7	Leucine zipper protein 1	83	FP-PCM
Q9JHQ5	Leucine zipper transcription factor-like protein 1	132	FP-PCM
Q9D154	Leukocyte elastase inhibitor A	132	FP-PCM
P24527	Leukotriene A-4 hydrolase	102	FP-PCM
Q148V7	LisH domain and HEAT repeat-containing protein KIAA1468	106	FP-PCM
P41216	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase 1	139	FP-PCM
Q5SUF2	Luc7-like protein 3	215	FP-PCM
P17897	Lysozyme C-1	216	FP-PCM
P08905	Lysozyme C-2	685	FP-PCM
P34884	Macrophage migration inhibitory factor	114	FP-PCM
P24452	Macrophage-capping protein	202	FP-PCM
Q8HWB0	Major histocompatibility complex class I-related gene protein	38	FP-PCM
Q9EQK5	Major vault protein	57	FP-PCM
P60755	MAM domain-containing glycosylphosphatidylinositol anchor protein 2	32	FP-PCM
Q3U435	Matrix metalloproteinase-25	39	FP-PCM
Q9D4I2	Meiosis inhibitor protein 1	137	FP-PCM

P20357	Microtubule-associated protein 2	196	FP-PCM
Q5HZI1	Microtubule-associated tumor suppressor 1 homolog	144	FP-PCM
Q811U4	Mitofusin-1	116	FP-PCM
Q9D279	Mitotic interactor and substrate of PLK1	106	FP-PCM
P11247	Myeloperoxidase	253	FP-PCM
Q3UIZ8	Myosin light chain kinase 3	310	FP-PCM
P97434	Myosin phosphatase Rho-interacting protein	28	FP-PCM
Q66X03	NACHT_ LRR and PYD domains-containing protein 9A	38	FP-PCM
Q9JKF6	Nectin-1	130	FP-PCM
P11627	Neural cell adhesion molecule L1	111	FP-PCM
Q5NCX5	Neuralized-like protein 4	101	FP-PCM
Q9CS84	Neurexin-1	94	FP-PCM
O09105	Neurogenic differentiation factor 4	63	FP-PCM
Q8CH77	Neuron navigator 1	36	FP-PCM
P11672	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin	217	FP-PCM
P29477	Nitric oxide synthase_ inducible	89	FP-PCM
Q8VDK1	Nitrilase homolog 1	193	FP-PCM
Q3TL44	NLR family member X1	42	FP-PCM
Q6GQT9	Nodal modulator 1	45	FP-PCM
E9Q7G0	Nuclear mitotic apparatus protein 1	40	FP-PCM
Q60974	Nuclear receptor corepressor 1	102	FP-PCM
P09405	Nucleolin	51	FP-PCM
Q8R1N4	NudC domain-containing protein 3	180	FP-PCM
Q8BXR9	Oxysterol-binding protein-related protein 6	40	FP-PCM
B9EJ86	Oxysterol-binding protein-related protein 8	46	FP-PCM
Q8JZM7	Parafibromin	127	FP-PCM
Q0ZLH2	Pejvakina	118	FP-PCM
P24369	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B	105	FP-PCM
Q8CHE4	PH domain leucine-rich repeat-containing protein phosphatase 1	28	FP-PCM
Q8VEM8	Phosphate carrier protein_ mitochondrial	188	FP-PCM
Q69ZK0	Phosphatidylinositol 3_4_5-trisphosphate-dependent Rac exchanger 1 protein	56	FP-PCM
E9Q3L2	Phosphatidylinositol 4-kinase alpha	98	FP-PCM
P53811	Phosphatidylinositol transfer protein beta isoform	112	FP-PCM
O70250	Phosphoglycerate mutase 2	88	FP-PCM
P70704	Phospholipid-transporting ATPase IA	61	FP-PCM

Q9CQJ2	PIH1 domain-containing protein 1	255	FP-PCM
G5E829	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 1	147	FP-PCM
Q9R0K7	Plasma membrane calcium-transporting ATPase 2	147	FP-PCM
Q3V0K9	Plastin-1	85	FP-PCM
B2RPU2	Pleckstrin homology domain-containing family D member 1	52	FP-PCM
Q3UH93	Plexin-D1	69	FP-PCM
Q61183	Poly(A) polymerase alpha	134	FP-PCM
Q91W45	Polyadenylate-binding protein-interacting protein 2B	179	FP-PCM
P0CG49	Polyubiquitin-B	3798	FP-PCM
P0CG50	Polyubiquitin-C	3798	FP-PCM
D3Z4R1	Probable ATP-dependent DNA helicase HFM1	67	FP-PCM
A2AKX3	Probable helicase senataxin	101	FP-PCM
Q5DTV4	Probable ribonuclease ZC3H12C	67	FP-PCM
P49935	Pro-cathepsin H	194	FP-PCM
Q61207	Prosaposin	204	FP-PCM
P97371	Proteasome activator complex subunit 1	210	FP-PCM
Q9Z2U1	Proteasome subunit alpha type-5	155	FP-PCM
Q07456	Protein AMBP	50	FP-PCM
Q9R144	Protein arginine N-methyltransferase 2	45	FP-PCM
Q8BS90	Protein aurora borealis	70	FP-PCM
P08003	Protein disulfide-isomerase A4	137	FP-PCM
Q922R8	Protein disulfide-isomerase A6	212	FP-PCM
Q3UHQ6	Protein dopey-2	29	FP-PCM
Q9DB52	Protein FAM122A	64	FP-PCM
A4Q9F1	Protein monoglycylase TTLL8	30	FP-PCM
Q99MR9	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 3A	34	FP-PCM
P50543	Protein S100-A11	140	FP-PCM
P14069	Protein S100-A6	954	FP-PCM
P27005	Protein S100-A8	10385	FP-PCM
P31725	Protein S100-A9	4214	FP-PCM
Q9QXN0	Protein Shroom3	87	FP-PCM
Q6ZPY2	Protein SMG5	43	FP-PCM
Q9QX47	Protein SON	70	FP-PCM
Q9CU24	Protein THEMIS3	66	FP-PCM

O55134	Protocadherin-12	109	FP-PCM
Q99PJ1	Protocadherin-15	37	FP-PCM
E9Q9D5	Rab-like protein 2A	85	FP-PCM
P63001	Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1	783	FP-PCM
Q05144	Ras-related C3 botulinum toxin substrate 2	848	FP-PCM
P60764	Ras-related C3 botulinum toxin substrate 3	641	FP-PCM
P61027	Ras-related protein Rab-10	1609	FP-PCM
P35283	Ras-related protein Rab-12	182	FP-PCM
Q9DD03	Ras-related protein Rab-13	1427	FP-PCM
Q91V41	Ras-related protein Rab-14	182	FP-PCM
Q8K386	Ras-related protein Rab-15	1621	FP-PCM
P62821	Ras-related protein Rab-1A	2104	FP-PCM
Q9D1G1	Ras-related protein Rab-1B	1667	FP-PCM
Q504M8	Ras-related protein Rab-26	182	FP-PCM
Q923S9	Ras-related protein Rab-30	182	FP-PCM
O35963	Ras-related protein Rab-33B	956	FP-PCM
Q6PHN9	Ras-related protein Rab-35	1721	FP-PCM
Q9JKM7	Ras-related protein Rab-37	182	FP-PCM
Q8BHD0	Ras-related protein Rab-39A	960	FP-PCM
Q8BHC1	Ras-related protein Rab-39B	182	FP-PCM
P63011	Ras-related protein Rab-3A	182	FP-PCM
Q9CZT8	Ras-related protein Rab-3B	182	FP-PCM
P62823	Ras-related protein Rab-3C	182	FP-PCM
P35276	Ras-related protein Rab-3D	182	FP-PCM
Q8CG50	Ras-related protein Rab-43	182	FP-PCM
P56371	Ras-related protein Rab-4A	182	FP-PCM
Q91ZR1	Ras-related protein Rab-4B	182	FP-PCM
P35279	Ras-related protein Rab-6A	960	FP-PCM
P61294	Ras-related protein Rab-6B	960	FP-PCM
P51150	Ras-related protein Rab-7a	644	FP-PCM
P55258	Ras-related protein Rab-8A	1609	FP-PCM
P61028	Ras-related protein Rab-8B	1609	FP-PCM
Q8CGE9	Regulator of G-protein signaling 12	97	FP-PCM
G3UYX5	Regulator of G-protein signaling 22	31	FP-PCM
Q0VGM9	Regulator of telomere elongation helicase 1	96	FP-PCM

Q61599	Rho GDP-dissociation inhibitor 2	1130	FP-PCM
Q62159	Rho-related GTP-binding protein RhoC	124	FP-PCM
P84096	Rho-related GTP-binding protein RhoG	451	FP-PCM
Q9ER71	Rho-related GTP-binding protein RhoJ	451	FP-PCM
Q8R527	Rho-related GTP-binding protein RhoQ	451	FP-PCM
Q9CW46	Ribonucleoprotein PTB-binding 1	71	FP-PCM
Q8C5L7	RNA-binding protein 34	97	FP-PCM
Q8JZV4	RNA-binding protein 41	71	FP-PCM
E9PZQ0	Ryanodine receptor 1	48	FP-PCM
Q60988	SCL-interrupting locus protein homolog	71	FP-PCM
P42208	Septin-2	285	FP-PCM
P84104	Serine/arginine-rich splicing factor 3	629	FP-PCM
Q8BL97	Serine/arginine-rich splicing factor 7	46	FP-PCM
Q8CIN4	Serine/threonine-protein kinase PAK 2	55	FP-PCM
Q9Z1Z2	Serine-threonine kinase receptor-associated protein	44	FP-PCM
P70124	Serpin B5	56	FP-PCM
Q62087	Serum paraoxonase/lactonase 3	147	FP-PCM
Q9R0P3	S-formylglutathione hydrolase	809	FP-PCM
A2AAY5	SH3 and PX domain-containing protein 2B	49	FP-PCM
Q91VW3	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 3	154	FP-PCM
Q920G3	Sialic acid-binding Ig-like lectin 5	53	FP-PCM
P42225	Signal transducer and activator of transcription 1	216	FP-PCM
Q8C0T5	Signal-induced proliferation-associated 1-like protein 1	17	FP-PCM
G3X9J0	Signal-induced proliferation-associated 1-like protein 3	205	FP-PCM
Q8R0L1	Signal-transducing adaptor protein 2	512	FP-PCM
A2ADF7	Solute carrier family 25 member 34	91	FP-PCM
Q3UTJ2	Sorbin and SH3 domain-containing protein 2	200	FP-PCM
Q6P8X1	Sorting nexin-6	79	FP-PCM
Q8VIJ6	Splicing factor_ proline- and glutamine-rich	75	FP-PCM
Q9D5L7	SPRY domain-containing SOCS box protein 1	174	FP-PCM
Q80TF6	StAR-related lipid transfer protein 9	29	FP-PCM
Q6PDS3	Sterile alpha and TIR motif-containing protein 1	37	FP-PCM
P38647	Stress-70 protein_ mitochondrial	70	FP-PCM
Q62407	Striated muscle-specific serine/threonine-protein kinase	133	FP-PCM
Q920F6	Structural maintenance of chromosomes protein 1B	44	FP-PCM
Q9Z104	SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily E member 1-related	96	FP-PCM
P80315	T-complex protein 1 subunit delta	148	FP-PCM
Q3UHK6	Teneurin-4	21	FP-PCM

Q8C0S4	Tetratricopeptide repeat protein 21A	44	FP-PCM
A3KMP			
2	Tetratricopeptide repeat protein 38	189	FP-PCM
	TFIIH basal transcription factor complex helicase XPD		
O08811	subunit	51	FP-PCM
Q9CQU			
0	Thioredoxin domain-containing protein 12	86	FP-PCM
P10639	Thioredoxin	251	FP-PCM
Q3TYG	TOG array regulator of axonemal microtubules protein		
6	2	47	FP-PCM
Q99MB			
1	Toll-like receptor 3	52	FP-PCM
Q93092	Transaldolase	64	FP-PCM
Q8R2M	Transcription elongation factor A N-terminal and		
0	central domain-containing protein 2	112	FP-PCM
Q62311	Transcription initiation factor TFIID subunit 6	118	FP-PCM
Q9QUI0	Transforming protein RhoA	124	FP-PCM
Q9WTR	Transient receptor potential cation channel subfamily V		
1	member 2	47	FP-PCM
Q80W0			
4	Transmembrane and coiled-coil domains protein 2	67	FP-PCM
Q99P91	Transmembrane glycoprotein NMB	172	FP-PCM
Q922P8	Transmembrane protein 132A	60	FP-PCM
Q6P2B1	Transportin-3	660	FP-PCM
Q9JLT2	Trehalase	53	FP-PCM
Q8BMS			
1	Trifunctional enzyme subunit alpha_ mitochondrial	55	FP-PCM
Q64514	Tripeptidyl-peptidase 2	80	FP-PCM
Q9JHI2	tRNA-specific adenosine deaminase 1	48	FP-PCM
P58771	Tropomyosin alpha-1 chain	207	FP-PCM
P21107	Tropomyosin alpha-3 chain	45	FP-PCM
P58774	Tropomyosin beta chain	207	FP-PCM
Q80TQ2	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase CYLD	46	FP-PCM
P62983	Ubiquitin-40S ribosomal protein S27a	3798	FP-PCM
P62984	Ubiquitin-60S ribosomal protein L40	3798	FP-PCM
Q99104	Unconventional myosin-Va	75	FP-PCM
Q5DU1			
4	Unconventional myosin-XVI	45	FP-PCM
P40336	Vacuolar protein sorting-associated protein 26A	116	FP-PCM
P50516	V-type proton ATPase catalytic subunit A	352	FP-PCM
P62814	V-type proton ATPase subunit B_ brain isoform	247	FP-PCM
P50518	V-type proton ATPase subunit E 1	167	FP-PCM
O88342	WD repeat-containing protein 1	145	FP-PCM
Q9R0G7	Zinc finger E-box-binding homeobox 2	167	FP-PCM

Q5DU3			
7	Zinc finger FYVE domain-containing protein 26	50	FP-PCM
Q02525	Zinc finger protein 39	37	FP-PCM
Q7TSH3	Zinc finger protein 516	47	FP-PCM
Q80Y81	Zinc phosphodiesterase ELAC protein 2	46	FP-PCM
O54931	A-kinase anchor protein 2	85	BLM
P45376	Aldose reductase	129	BLM
Q8VHG			
2	Angiomotin	54	BLM
Q3V0J4	Ankyrin repeat domain-containing protein 53	76	BLM
P32261	Antithrombin-III	193	BLM
Q00623	Apolipoprotein A-I	231	BLM
P18293	Atrial natriuretic peptide receptor 1	54	BLM
P35564	Calnexin	46	BLM
	cAMP-dependent protein kinase type II-alpha		
P12367	regulatory subunit	223	BLM
	cAMP-dependent protein kinase type II-beta regulatory		
P31324	subunit	63	BLM
Q7TPZ8	Carboxypeptidase A1	40	BLM
Q63918	Caveolae-associated protein 2	210	BLM
B2RX88	Centrosome and spindle pole associated protein 1	143	BLM
Q61147	Ceruloplasmin	61	BLM
Q8BXK			
9	Chloride intracellular channel protein 5	400	BLM
E9Q5M			
6	Cilia and flagella-associated protein 44	70	BLM
B2RW3			
8	Cilia- and flagella-associated protein 58	36	BLM
O88487	Cytoplasmic dynein 1 intermediate chain 2	89	BLM
Q45VK			
7	Cytoplasmic dynein 2 heavy chain 1	35	BLM
Q9R0P5	Destrin	807	BLM
O08749	Dihydrolipoyl dehydrogenase_ mitochondrial	69	BLM
Q9EQP2	EH domain-containing protein 4	51	BLM
Q9D379	Epoxide hydrolase 1	82	BLM
Q8R3S6	Exocyst complex component 1	46	BLM
Q6KAR			
6	Exocyst complex component 3	90	BLM
	FERM_ RhoGEF and pleckstrin domain-containing		
F8VPU2	protein 1	49	BLM
Q8CIB5	Fermitin family homolog 2	73	BLM
P97447	Four and a half LIM domains protein 1	100	BLM
Q9CX53	Gem-associated protein 6	346	BLM
Q60934	Glutamate receptor ionotropic_ kainate 1	46	BLM

P55937	Golgin subfamily A member 3	42	BLM
Q8C5Q4	G-rich sequence factor 1	49	BLM
P31315	GS homeobox 1	73	BLM
P62874	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta-1	158	BLM
P62880	Guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(T) subunit beta-2	170	BLM
P29387	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-4	158	BLM
P14602	Heat shock protein beta-1	2586	BLM
Q80UW0	Heparan-sulfate 6-O-sulfotransferase 2	73	BLM
O35737	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H	71	BLM
Q80TJ7	Histone lysine demethylase PHF8	68	BLM
P09055	Integrin beta-1	62	BLM
O55222	Integrin-linked protein kinase	168	BLM
P13597	Intercellular adhesion molecule 1	88	BLM
Q61781	Keratin_ type I cytoskeletal 14	93	BLM
Q9QWL7	Keratin_ type I cytoskeletal 17	97	BLM
Q6IFX2	Keratin_ type I cytoskeletal 42	93	BLM
Q8BSS9	Liprin-alpha-2	37	BLM
Q9JI18	Low-density lipoprotein receptor-related protein 1B	15	BLM
Q9D1H9	Microfibril-associated glycoprotein 4	253	BLM
Q9R1L5	Microtubule-associated serine/threonine-protein kinase 1	43	BLM
Q3U214	Microtubule-associated serine/threonine-protein kinase 3	41	BLM
P09541	Myosin light chain 4	84	BLM
O08692	Neutrophilic granule protein	1924	BLM
Q99MH5	Nucleoside diphosphate kinase homolog 5	56	BLM
P28656	Nucleosome assembly protein 1-like 1	93	BLM
Q9ET54	Palladin	29	BLM
P98199	Phospholipid-transporting ATPase ID	94	BLM
Q80VF6	Protein FAM181B	136	BLM
Q8BPI1	Protein kintoun	45	BLM
P35242	Pulmonary surfactant-associated protein A	187	BLM
Q9EQZ6	Rap guanine nucleotide exchange factor 4	46	BLM
P35292	Ras-related protein Rab-17	97	BLM
P62835	Ras-related protein Rap-1A	386	BLM
Q99JI6	Ras-related protein Rap-1b	386	BLM

Q8BHL			
4	Retinoic acid-induced protein 3	277	BLM
Q9JJ80	Ribosome production factor 2 homolog	121	BLM
Q7TSY8	Shugoshin 2	111	BLM
P52019	Squalene monooxygenase	74	BLM
Q8CG47	Structural maintenance of chromosomes protein 4	62	BLM
P80314	T-complex protein 1 subunit beta	102	BLM
Q8BW4			
9	Tetratricopeptide repeat protein 12	37	BLM
Q80XJ3	Tetratricopeptide repeat protein 28	26	BLM
P52196	Thiosulfate sulfurtransferase	115	BLM
P07309	Transferrin	263	BLM
Q9JHJ0	Tropomodulin-3	175	BLM
Q6A4J8	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 7	62	BLM
Q06318	Uteroglobin	1020	BLM
Q9D1K			
2	V-type proton ATPase subunit F	155	BLM
Q8BND			
3	WD repeat-containing protein 35	52	BLM
Q8K088	Zinc finger and BTB domain-containing protein 6	110	BLM
Q3U133	Zinc finger protein 746	134	BLM

^a Identification is based on proteins ID from UniProt protein database, reviewed only (<http://www.uniprot.org>).

^b Proteins with expression significantly altered are organized according to the ratio.

* Indicates unique proteins in alphabetical order