

## Rhomb-I, a P-I metalloproteinase from *Lachesis muta rhombeata* venom degrades vessel ECM components and impairs platelet aggregation

Valéria Gonçalves de Alvarenga<sup>a</sup>, Luciana S. Oliveira<sup>a</sup>, Gustavo O. Santos<sup>a</sup>, Dan E. Vivas-Ruiz<sup>c</sup>, Marcia Helena Borges<sup>a</sup>, Rodrigo C. G. de Souza<sup>d</sup>, Solange M.T. Serrano<sup>e</sup>, Ana Maria Moura-da-Silva<sup>b</sup>, Eladio F. Sanchez<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Laboratório de Bioquímica de Proteínas de Venenos Animais, Fundação Ezequiel Dias, Belo Horizonte, Brazil

<sup>b</sup>Laboratório de Imunopatologia, Instituto Butantan, São Paulo, Brazil

<sup>c</sup>Laboratório de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

<sup>d</sup>Serra Grande Center, Itacare, Bahia, Brazil

<sup>e</sup>Laboratorio Especial de Toxinología Aplicada/CAT-cepid, Instituto Butantan, São Paulo, Brazil

### Abstract

Rhomb-I, a 23-kDa metalloproteinase was isolated from *L. m. rhombeata* venom. Its dimethylcasein proteolysis was abolished by metal chelators, and slightly enhanced by Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> ions, but inhibited by Co<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> and  $\alpha$ 2-macroglobulin. In aqueous solution, rhomb-I autoproteolyzed to a 20- and 11-kDa fragments at 37°C. The amino acid sequence showed high homology with other SVMPs. Rhomb-I causes hemorrhage that may be ascribed to hydrolysis of essential BM, ECM and plasma proteins. It preferentially cleaves the  $\alpha$ -chains of fibrin(ogen). Rhomb-I inhibited convulxin- and vWF-induced aggregation on human platelets without significant effect on collagen-stimulated aggregation or other effectors. It digests vWF into a low Mr multimers of vWF and a rvWF-A1 domain to a 27-kDa fragment as revealed by western blotting with mouse anti-rvWF A1-domain IgG. Incubation of platelets with rhomb-I resulted in adhesion and cleavage of platelet receptors GPIb $\alpha$  and GPVI to release a 55-kDa soluble form. Both membrane glycoproteins GPIb $\alpha$  that binds vWF, together with GPVI which binds collagen, play a key role in mediating platelet adhesion/activation and can initiate (patho)physiological thrombus formation. *Conclusions:* rhomb-I is implicated in the pathophysiology of *Lachesis* envenoming by disrupting vasculature, hemostasis and platelet aggregation through impairing vWF-GPIb axis and blocking GPVI-collagen binding.

**Keywords:** *Lachesis muta rhombeata*, snake venom metalloproteinase, platelet receptors, hemostasis, hemorrhage.

\*Corresponding author, Research and Development Directory, Ezequiel Dias Foundation, Belo Horizonte, MG, Brazil. E-mail: eladio.flores@funed.mg.gov.br; Tel.: +55-(13) 3314-4784

Gustavo Oliveira Santos

Caracterização bioquímica de uma serinoprotease com efeito  
ativador do plasminogênio do veneno de *Lachesis muta*  
*rhombeata*.

Dissertação apresentada ao Programa  
de Pós-graduação em Toxinologia do  
Instituto Butantan, para obtenção do  
título de Mestre em Toxinologia.

Orientador: Prof. Dr. Eladio Oswaldo  
Flores Sanchez

São Paulo 2022

Ofício PPGTox nº 188 /2022

São Paulo, 27 de outubro de 2022.

Ilmo. Sr.  
Prof. Dr. Eladio Oswaldo Flores Sanchez  
Fundação de Desenvolvimento e Pesquisa - FUNED  
Fundação Ezequiel Dias

Prezado Professor,

Em nome da Comissão de Pós-Graduação Ciências – Toxinologia do Instituto Butantan, convido Vossa Senhoria para integrar como membro **presidente** a Comissão Julgadora de defesa da dissertação do aluno **Gustavo Oliveira Santos**, orientado por Vossa Senhoria.

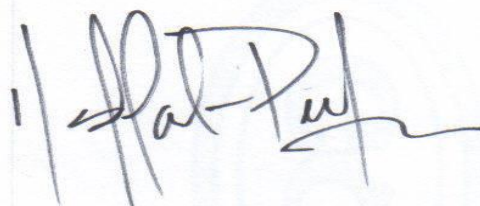
Foram convidados para compor a Comissão, juntamente com Vossa Senhoria os seguintes Profs. Drs:

Titulares: Sonia A. de Andrade Chudzinski, Laboratório Biofármacos, Instituto Butantan e  
Luís Roberto de Camargo Gonçalves, Lab. Fisiopatologia, Instituto Butantan

Suplentes: Ivo Lebrun, Laboratório de Bioquímica, Instituto Butantan e  
Clara Guerra Duarte, Fundação Ezequiel Dias, Funed

A realização da defesa está marcada para o dia 11 de novembro de 2022, às 14:00h, pela plataforma do Meet.

Atenciosamente,



---

Dr. Daniel Carvalho Pimenta  
Coordenador do Programa de Pós-  
Graduação Ciências-Toxinologia  
Instituto Butantan

São Paulo, 11 de fevereiro de 2019

## DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que VALÉRIA GONÇALVES DE ALVARENGA, RG: 10.525.639, CPF: 012.780.736-55, está regularmente matriculada (nº 115), no nível de Doutorado, no Programa de Pós-Graduação Ciências - Toxinologia, do Instituto Butantan.



Dra. Roxane Maria Fontes Piazza  
Coordenadora do Programa de  
Pós-Graduação em Ciências-Toxinologia  
Instituto Butantan