

RESUMO APRESENTAÇÃO ORAL CURTA - CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE (CCS)/NEUROBIOLOGIA

**ESTRATÉGIAS DE GERAÇÃO DE CÉLULAS GANGLIONARES FORA DE
SUA JANELA TEMPORAL NO DESENVOLVIMENTO DA RETINA**

Franciane De Queiroz Ferreira (franciane.ferreira@biof.ufrj.br)

Vitória Melo Fernandes Cerqueira (vitriamelo2010@gmail.com)

Julianna Veltri Mattos (jujuveltri@gmail.com)

Viviane Medeiros Oliveira Valença (viviane.valenca@biof.ufrj.br)

Rodrigo Alves Portela Martins (rodrigomartins@ufrj.br)

Mariana S. Silveira (Orientadora) (silveira@biof.ufrj.br)

Diversas neuropatias que impactam a visão, como o glaucoma, afetam as células ganglionares da retina (RGCs) e seus axônios e podem levar a um quadro de cegueira irreversível. As intervenções disponíveis para o glaucoma utilizam-se de fármacos para o controle da pressão intraocular, no entanto, este tratamento retarda a progressão da doença, mas não promove a reversão da perda visual.

Uma das vertentes do nosso grupo visa estabelecer protocolos para geração de novo de RGCs como uma futura estratégia regenerativa para as RGCs. Para isso, temos como alvo os progenitores tardios que compartilham propriedades com a glia de Müller, considerada como uma fonte endógena regenerativa da retina adulta. Dados prévios do grupo mostraram que a superexpressão de Klf4 em progenitores tardios, realizada pela técnica de

eletroporação in vivo, leva após 39 h à ativação de um programa molecular de geração de RGCs, fora da sua janela temporal, e após 10 dias as RGCs induzidas (iRGCs) apresentam não só características morfológicas, como adquirem a identidade celular definida por meio da detecção de marcadores específicos deste tipo celular, como RBPMS. No entanto, foi observado que as iRGCs não estendem seus axônios a longas distâncias, o que pode ser consequência do efeito inibitório de Klf4 no processo de axonogênese, já descrito na literatura, ou pela ausência de fatores críticos para diferenciação terminal de RGCs, como Pou4f2/Brn3b. Dessa forma, testamos com as mesmas abordagens experimentais, se a co-expressão de Klf4 e Brn3b assim como Brn3b sozinho geravam células ganglionares de forma mais eficiente que Klf4 sozinho. No entanto nossos dados mostraram que a co-expressão de Klf4+Brn3b foi muito menos eficiente que Klf4. Estes resultados nos levaram a propor que a expressão transitória, e não contínua de Klf4, pode ser crítica para a geração de iRGCs. Além disso, apesar da superexpressão de Brn3b sozinho gerar um pequeno número de iRGCs, estas projetam seus axônios a longas distâncias, ultrapassando o quiasma óptico.

Em função disso, desenhamos novas estratégias para a geração de iRGCs que envolvem a superexpressão transitória de Klf4 pelo método de eletroporação in vivo e recombinação induzida pela ativação de Cre recombinase dependente de tamoxifeno, a fim de evitar esse possível efeito inibitório de Klf4 da diferenciação e axonogênese das iRGCs. Também testaremos a combinação da expressão transitória de Klf4 e expressão sequencial de Brn3b. Estas estratégias serão debatidas neste trabalho e aplicadas aos progenitores tardios para, desta forma, verificarmos se constituem abordagens eficientes para se obter um número expressivo de iRGCs, assim como se estas células geradas apresentam fenótipos característicos destes neurônios de projeção maduros.