

RESUMO - DOENÇAS NEUROLÓGICAS

O ENVOLVIMENTO DAS CÉLULAS GLIAIS NA PROTEÇÃO INDUZIDA POR ANTAGONISTAS DE TRPA1 EM UM MODELO DE GLAUCOMA

Ana Gabriela Alves Costa (agalvescosta@id.uff.br)

Guilherme Ribeiro Teixeira (grteixeira@outlook.com)

Daniel Souza Monteiro De Araújo (daniel.souzamonteirodearaujo@unifi.it)

Karin Da Costa Calaza (Kcalaza@id.uff.br)

Introdução: O glaucoma, principal causa de cegueira irreversível em humanos, é marcado por eventos inflamatórios, oxidativos e isquêmicos, além de morte de células ganglionares e progressiva perda axonal. As funções das células gliais da retina e nervo óptico no glaucoma têm sido amplamente estudadas devido a seu importante envolvimento na neuroproteção, inflamação e morte neural. Pesquisas anteriores do grupo revelaram efeitos neuroprotetores de antagonistas de receptores de TRPA1 em retinas isquêmicas, porém os mecanismos inerentes desta ação ainda são incertos.

Objetivo: Investigar a participação de células gliais na neuroproteção induzida por bloqueadores do receptor TRPA1 em um modelo de glaucoma.

Métodos: Nos experimentos, foram utilizados camundongos C57Bl/6 machos (6-8 semanas) em conformidade ao protocolo (1057) do comitê de ética para experimentação animal da UFF. Foi induzido o aumento de pressão intraocular (PIO) no olho esquerdo dos animais por uma hora, sendo o olho direito utilizado como controle. Após o aumento da PIO, os animais foram tratados com colírios contendo veículo (VEH) DMSO 4%+Tween 4% ou HPMC 0,5% ou tratados com colírio dipirona (DIP, um bloqueador de TRPA1) a 10 mM diluído em DMSO+Tween 4% ou HPMC uma vez ao dia por 1 semana. As retinas foram preparadas para imunofluorescência (IF), incubadas overnight com anticorpos primários (anti-GFAP 1:200, anti-IBA1 1:300, anti-TNF α 1:150). Fotomicrografias das lâminas de retina foram realizadas usando microscópio Leica DM2500 (40x). Para cada retina, 4 diferentes campos foram capturados, e no mínimo 3 cortes foram registrados por grupo experimental. Para a análise, a média dos valores das regiões centrais e periféricas foram estimadas separadamente. A análise das imagens foi conduzida usando Adobe Photoshop, e a fluorescência mensurada em cinza, usando filtros específicos. Os dados coletados foram normalizados para seus respectivos controles. Os valores são expressos como média $\pm$ desvio padrão. As análises estatísticas foram realizadas no GraphPad Prism 8.0.2, com significância com $p < 0,05$ (ANOVA test).

Resultados: As retinas isquêmicas (PIO aumentada) exibiram aumento significativo de número de feixes de Müller (VEH+ISQ $19,22 \pm 2,25$; DIP+ISQ $18,6 \pm 0,36$) comparadas à retinas não isquêmicas (VEH $0,04 \pm 0,07$; DIP $0,25 \pm 0,44$; $p = 0,0115$; $p < 0,0001$; $n = 3$). No entanto, não houve diferença entre os grupos VEH+ISQ e DIP+ISQ ($p = 0,96$). Foi observado uma tendência de aumento de reatividade em astrócitos e retina total nos grupos isquêmicos quando comparados aos seus controles, mas sem diferença entre os grupos VEH+ISQ e DIP+ISQ ($n = 3$). Análises qualitativas de cortes marcados com anti-IBA1 mostraram aumento da marcação para IBA1+ em retinas isquêmicas com células menos ramificadas ($n = 2$). A IF para anti-TNF α demonstrou, através de análise qualitativa, um aumento da marcação da citocina em grupos isquêmicos

comparados com controle, entre os grupos isquêmicos VEH e DIP parece ter havido diminuição da reatividade (análise preliminar, n=1).

Conclusão: Os resultados sugerem que o efeito neuroprotetor da DIP na retina isquêmica parece não estar envolvida diretamente à inibição da reatividade glial. Porém, esses achados não excluem um possível envolvimento glial na proteção tecidual, visto que estas células possuem diversos perfis de ativação. Além disso, o resultado preliminar com a marcação com anti-TNF α indica uma possível diminuição da citocina pró-inflamatória no grupo isquêmico tratado com dipirona.

Palavras-chave: inflamação; isquemia; retina.