

POTENCIAL TERAPÊUTICO DE CÉLULAS PRECURSORAS NEURONAIAS HUMANAS NA RETINOPATIA DIABÉTICA - MODELO PRÉ-CLÍNICO

Claudia Sayuri Saçaki
claudiasacaki@gmail.com

Bassam F. Mogharbel, Priscila E. F. Stricker, Dilcele S. M. Dziedzic, Juan C. D. Moreno, Peterson T. Dornbusch, Mário T. Sato, Naoye Shiokawa, Lúcia Noronha, Seigo Nagashima, Marianna Bacellar-Galdino, Célia Regina. C. Franco, Fabiano Montiani-Ferreira, Katherine Athayde Teixeira de Carvalho.

RESUMO

Introdução: O *diabetes mellitus* é uma doença do grupo de distúrbios metabólicos de múltipla etiologia, crônico, e quando não tratado ou controlado devidamente, apresenta sérios danos ao longo do tempo, especialmente aos vasos sanguíneos. Caracteriza-se por hiperglicemia proveniente de problemas na produção e/ou ação da insulina em tecidos periféricos. Esta doença é apontada, como uma das principais causadoras de problemas renais, cardíacos e dentre outros, a cegueira. As recomendações incluem rastreamento, diagnóstico e ações terapêuticas que são conhecidos ou acreditados para favorecer o estado de saúde destes pacientes (Li, et al., 2010). A retina é composta por tecidos distintos distribuídos em dez camadas, responsáveis pela recepção e transmissão da luz, transformando em sinais elétricos a serem enviados ao cérebro na formação das imagens. Os neurônios da retina e as células vasculares são dependentes da atividade do receptor da insulina, e a ação reduzida desta é que conduz à neurodegeneração. A retinopatia diabética é uma das consequências do diabetes, apresentando a diminuição da acuidade visual e comprometimentos que levam à perda de visão. A progressão da doença é caracterizada por sinais de aumento da permeabilidade vascular, desenvolvimento precoce de catarata e glaucoma, causando danos ao nervo óptico e microaneurismas (Fong et al., 2004), bem como, a diminuição e perda das células da camada ganglionar. O controle dos níveis da glicemia pode reduzir ou retardar a progressão da retinopatia diabética mas, a falta deste, contribui com a apoptose de células endoteliais e neurônios por meio da toxicidade. Este estado pode induzir várias mudanças, incluindo uma disposição pró-inflamatória causando hipóxia na retina. É relevante encontrar soluções e tratamentos para o diabetes e suas consequências, considerando o aumento significativo de indivíduos sendo diagnosticados com essa patologia. Estudos com células-tronco, incluindo as mesenquimais derivadas do cordão umbilical têm sido promissores, oferecendo neuroproteção, regeneração de vasos e desencadeamento da liberação de fatores de crescimento e citocinas, culminando em melhora da acuidade visual (Inoue et al., 2014). A geleia de Wharton é um tecido conjuntivo que tem como propriedade, proteger veias e artérias do cordão umbilical. Este estudo foi realizado com as células-tronco mesenquimais da geleia de Wharton de cordão umbilical humano, por se tratar de uma fonte de células indiferenciadas e pluripotentes, com expressão de proteínas neuronais específicas, na porção gelatinosa do cordão umbilical, facilitando o desenvolvimento das células precursoras neuronais.

Objetivo: Avaliar a terapia celular com células precursoras neuronais humanas (hNPCs) na retinopatia diabética (RD) em ratos Wistar induzidos ao diabetes através de estreptozotocina (STZ).

Métodos: As células-tronco mesenquimais da geleia de Wharton (CTMs-GW) foram isoladas, expandidas e semeadas em um substrato de biopolímero, sem a adição de

fatores de crescimento para o desenvolvimento de neuroesferas; sendo que a partir destas, as hNPCs foram isoladas e então caracterizadas através da imunocitoquímica. Os animais foram divididos em 3 grupos; não diabético (ND) n = 4; diabético sem tratamento (DM) n = 9; diabético com terapia celular (DM + hNPCs) n = 9. As células foram transplantadas por injeção intravítrea (1×10^6 cel / μL) em cada olho dos ratos induzidos ao diabetes tipo I. As avaliações por tomografia de coerência óptica (OCT) e eletrorretinografia (ERG) foram realizadas antes e depois da indução, e após a terapia celular. Quatro semanas após o tratamento, a enucleação ocular permitiu as análises histopatológica e imunohistoquímica (IHC). A amostra de cordão umbilical humano foi coletada após autorização do Comitê de Ética em Pesquisa das Faculdade Pequeno Príncipe (nº 1.936.025 - 2017). O estudo com animais foi aprovado pelo Comitê de Ética em Animais das Faculdade Pequeno Príncipe (nº 48/2018). Todos os experimentos foram realizados de acordo com as normas ARRIVE.

Resultados: O aumento da camada de fotorreceptores, no qual, desempenham muitos papéis na função visual, demonstra que, as hNPCs podem ser consideradas no tratamento não apenas da RD como também, em outras doenças que acometem a retina por problemas neurodegenerativos. Os pericitos, que recobrem os vasos sanguíneos, sofrem degeneração na RD e as hNPCs indicam ter a capacidade de estimular os pericitos retiniais, dando suporte na microcirculação, através de regulação do fluxo sanguíneo, mantendo a integridade da barreira hemato-retiniana, e também contribuir na ativação de células-tronco endógenas. O comprometimento da sinalização entre células gliais e vasos sanguíneos é percebido na retina diabética, as células de Müller (células gliais) podem desbloquear a capacidade neuroregenerativa da retina e produzir progenitores neuronais, as hNPCs parecem ter dado suporte neste desbloqueio. A forma como estas células desenvolveram esses caminhos, desencadeando a ativação da regeneração endógena por fatores neurotróficos suportados por essas células, deve ser melhor investigada.

Conclusão: as hNPCs advindas das CTMs-GW foram capazes de migrar e integrar em todas as camadas da retina, reduziram a progressão da RD, demonstrando o efeito neuroprotetor e a promoção da neuroregeneração retiniana. Estes efeitos foram demonstrados através dos exames de OCT e ERG e validados pelas diferenças qualitativas da histoquímica e imunohistoquímica em suas análises estatísticas.

Palavras-chave: retinopatia diabética, precursoras neuronais, terapia celular.

REFERÊNCIAS:

FONG, D. S. et al. **Diabetic retinopathy**. *Diabetes care*, v. 27, n. 10, p. 2540–2553, 2004.

INOUE, Y. et al. Subretinal transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells delays retinal degeneration in the RCS rat model of retinal degeneration. **Experimental eye research**. v. 85, n. 2, p. 234–241. 2007.

LI, R. et al. Cost-effectiveness of interventions to prevent and control diabetes mellitus: a systematic review. **Diabetes care**. v. 33, n. 8, p. 1872–1894. 2010.