

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE PSICOLOGIA

André Maurício Passos Liber

**Estudo morfológico e eletrofisiológico dos efeitos da injeção intravítrea de ácido
micofenólico em coelhos utilizando um modelo de uveíte crônica experimental**

**SÃO PAULO
2015**

André Maurício Passos Liber

**Estudo morfológico e eletrofisiológico dos efeitos da injeção intravítrea de ácido
micofenólico em coelhos utilizando um modelo de uveíte crônica experimental**
(Versão Corrigida)

Tese apresentada ao instituto de
Psicologia da Universidade de
São Paulo para obtenção de título
de Doutor em Ciências. Área de
concentração: Neurociências e
Comportamento.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Dora Fix
Ventura

Coorientador: Dr. Francisco Max
Damico

SÃO PAULO
2015

ANDRÉ MAURÍCIO PASSOS LIBER

Estudo morfológico e eletrofisiológico dos efeitos da injeção intravítrea de ácido micofenólico em coelhos utilizando um modelo de uveíte crônica experimental

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Comportamento do Departamento de Psicologia Experimental do Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo, como requisito para obtenção do título de doutor em Ciências.

Banca Examinadora

Prof. Dr. (orientador): _____

Instituição: _____ **Assinatura:** _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ **Assinatura:** _____

Aprovada em: _____, de _____ de _____.

Local de defesa: Instituto de psicologia
Universidade de São Paulo

Dedico este trabalho a vocês que sempre me fizeram acreditar na realização dos meus sonhos e trabalharam muito para que eu pudesse realiza-los.

Aos meus Pais, Carlos e Teresinha.

Agradecimentos

Agradeço a minha orientadora, Prof^a. Dr.^a Dora Fix Ventura, por todos esses anos de convivência e ensinamentos, por ter puxado minha orelha quando preciso, mas também por sempre reconhecer o esforço e empenho de seus alunos, sempre nos orientando de forma leve e estando sempre à disposição.

Ao meu Coorientador Dr. Francisco Max Damico, que me acolheu dentro de sua linha pesquisa, o que me proporcionou o aprendizado de novas técnicas, além de ser uma pessoa impar de fácil convívio.

Ao Prof. Dr. Marcelo Fernandes da Costa, pela ajuda com a análise estatística e todos estes anos de amizade.

Ao Prof. Dr. Armando da Silva Cunha Jr. e seu aluno de doutorado Ricardo Martins Duarte Byrro da UFMG, pela colaboração no trabalho.

À Prof.^a Dr.^a Dânia E. Hamassaki, por sempre abrir as portas de seu laboratório, desde o meu mestrado e também agradeço a sua técnica, Priscila Sayami, por toda ajuda prestada e por sempre ter me recebido com simpatia.

Ao Dr. Balázs Vince Nagy, por sua colaboração no projeto e ajuda técnica prestada ao ERG.

À aluna de iniciação científica, Amanda Alves, pela ajuda na realização do ERG.

À oftalmologista Thais Zamudio Igami, por realizar os exames clínicos nos coelhos.

Ao mestrando Ricardo Tiosso, pela ajuda prestada.

Ao secretário do laboratório, Claudiel Luiz dos Santos, pela amizade e ajuda sempre prestada.

Às secretarias Sônia Maria Caetano de Souza e Maria Clarice Ferreira da Silva.

Em especial à Dr.^a Gabriela Lourençon Ioshimoto, por todos esses anos de parceria dentro e fora do ERG.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa de doutorado.

E não poderia de deixar de agradecer aos meus velhos e novos amigos do LabVis, pessoas com quem acabei passando mais tempo diariamente do que com a minha própria família. Obrigado a todos! (Daniela Bonci, Einat Hauzman, Valeria Duarte, Valtenice França, Flávio Theodoro, Leonardo Henriques, Mirella Barboni, Mirella Gualtieri, Thiago Costa, Amanda Bastos, Muriele Lobato, Livia Rego, Felipe Galante, Vitor Corredor, Amanda Bernardino, Luiz Baran, Aline Goto, Diego Decleva, Viviani Montovani e Luise Garcia).

... Everything that drowns me makes me wanna fly

Everything that kills me makes me feel alive ...

Estudo morfológico e eletrofisiológico dos efeitos da injeção intravítrea de ácido micofenólico em coelhos utilizando um modelo de uveíte crônica experimental

Resumo

Uveítes são inflamações intra-oculares geralmente crônicas e constituem uma das principais causas de cegueira no mundo. Os corticosteroides são a droga de primeira escolha para o tratamento das uveítes não infecciosas, mas muitas vezes há necessidade do uso de outras drogas imunossupressoras. O micofenolato de mofetila (MMF) é um potente imunossupressor administrado por via oral que vem sendo utilizado com sucesso no tratamento das uveítes, mas cujos efeitos colaterais muitas vezes tornam necessária sua suspensão. O MMF é uma pró-droga, que é transformada no fígado em ácido micofenólico (MPA), o imunossupressor ativo. Para minimizar os efeitos colaterais do uso do MPA e permitir que o olho receba uma dose maior da droga, testamos os efeitos da injeção intravítrea do MPA em um modelo de uveíte crônica experimental (UCE) em olhos de coelhos. Os objetivos deste estudo foram: 1) reproduzir um modelo de UCE em coelhos através da injeção intravítrea de *M. tuberculosis*; 2) estabelecer uma dose segura de MPA a ser injetada no vítreo; e 3) analisar os efeitos morfológicos, clínicos e eletrofisiológicos da injeção intravítrea de MPA em coelhos utilizados como modelo de UCE. O modelo de UCE reproduzido apresentou uma inflamação autolimitada, possuindo um pico de inflamação no 17º dia após a indução da uveíte. As doses de MPA testadas (0,1 e 1mg) não foram tóxicas para a retina do coelho. O modelo de UCE recebeu uma injeção intravítrea de 0,1mg de MPA e as análises clínicas demonstraram uma redução na inflamação. As análises realizadas com o eletrorretinograma (ERG) também apontaram uma melhora na inflamação através da recuperação da latência das ondas-a e b (fotópicas e escotópica) e recuperação da amplitude da onda-a (fotópica). As análises morfológicas com HE não apresentaram alterações na estrutura retiniana, porém a imunohistoquímica para proteína GFAP evidenciou gliose das células de Müller, sinalizando um processo inflamatório. Concluímos que o modelo de UCE reproduziu uma uveíte anterior semelhante à uveíte causada em humanos e a dose de MPA utilizada apresentou efeitos terapêuticos durante o pico de inflamação, mostrando uma diminuição da inflamação e promovendo a recuperação de fotorreceptores e células bipolares-ON. Este resultado faz das injeções intravítreas de MPA um recurso promissor no tratamento de uveítes. Porém, novos experimentos são necessários para padronizar os resultados encontrados.

Palavras-Chave: uveíte crônica experimental, ácido micofenólico, injeção intravítrea eletrorretinograma, morfologia.

Morphological and electrophysiological study of the effects of the intravitreal injection of mycophenolic acid in rabbits using an experimental model of chronic uveitis

Abstract

Uveitis is an intraocular inflammation usually chronic and a major cause of blindness in the world. Corticosteroids are the first choice drug for treatment of non-infectious uveitis, but other immunosuppressive drugs are usually required. Mycophenolate mofetil is a powerful immunosuppressant orally administered that has been used successfully in the treatment of uveitis, but whose side effects often lead to the suspension of the drug intake. The Mycophenolate mofetil is a prodrug, which is converted in the liver to mycophenolic acid (MPA), the active immunosuppressant. To minimize side effects of the use of mycophenolic acid and to enable a higher administration dose in the eye, we tested the effects of the intravitreal injection of mycophenolic acid in an experimental model of chronic uveitis (ECU) in rabbit eyes. The objectives of this study were: 1) to reproduce an ECU model in rabbits by intravitreal injection of *M. tuberculosis*; 2) to establish a safe dose of mycophenolic acid to be injected into the vitreous; and 3) to analyze the morphological, clinical and electrophysiological effects of the intravitreal injection of mycophenolic acid in rabbits used as a model of ECU. The ECU model reproduced showed a self-limiting inflammation, having a peak of inflammation at 17 days after uveitis induction. Both MPA doses we tested (0.1 and 1 mg) were not toxic to the retina. The ECU model received an intravitreal injection of 0.1 mg of MPA and clinical analysis demonstrated a reduction of the inflammation. The electroretinography (ERG) analysis also indicated an improvement in the inflammation process by restoring the latency of the a-wave and b-wave (photopic and scotopic) and by the recovery of the a-wave amplitude (photopic). The morphological analysis with HE showed no changes in the retinal structure, however the immunohistochemistry for GFAP protein showed gliosis of Müller cells, indicating an inflammatory process. We conclude that the ECU model reproduced an anterior uveitis similar to the human uveitis and the MPA dose we used showed therapeutic effects during the inflammation peak, reducing the inflammation and promoting the recovery of photoreceptors and ON bipolar cells. This makes intravitreal injections of MPA a promising resource in the treatment of uveitis. Future studies are necessary to standardize the present findings.

Keywords: experimental chronic uveitis, mycophenolic acid, intravitreal injection electroretinogram, morphology.