



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
CENTRO MULTIDISCIPLINAR UFRJ MACAÉ  
INSTITUTO DE ENFERMAGEM  
GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM

Eduarda Maia Rangel

EFEITO DA 4-DIMETILAMINOCHALCONA NA NEUROPROTEÇÃO DA RETINA  
SUBMETIDA A ESTRESSE OXIDATIVO: POSSÍVEL IMPLICAÇÃO NO GLAUCOMA.

Macaé

2023

Eduarda Maia Rangel

EFEITO DA 4-DIMETILAMINOCHALCONA NA NEUROPROTEÇÃO DA RETINA  
SUBMETIDA A ESTRESSE OXIDATIVO: POSSÍVEL IMPLICAÇÃO NO GLAUCOMA.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
ao Instituto de Enfermagem da Universidade  
Federal do Rio de Janeiro, como requisito para  
a obtenção do título de Bacharel em  
Enfermagem.

Orientador: Prof. Dr. Henrique Rocha  
Mendonça

Macaé

2023

## CIP - Catalogação na Publicação

R196

Rangel, Eduarda Maia

Efeito da 4 – (Dimetilamino) Chalcoma na neuroproteção da retina a estresse oxidativa: possível implicação no glaucoma / Eduarda Maia Rangel - Macaé, 2023. 55 f.

Orientador(a): Henrique Mendonça.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Enfermagem, Bacharel em Enfermagem e Obstetrícia, 2023.

1. Células ganglionares da retina. 2. Estresse oxidativo. 3. Neuroproteção. 4. Políticas públicas de saúde. 5. Glaucoma. I. Mendonça, Henrique, orient. II. Título.

CDD 610

EDUARDA MAIA RANGEL

EFEITO DA 4-DIMETILAMINOCHALCONA NA NEUROPROTEÇÃO DA RETINA  
SUBMETIDA A ESTRESSE OXIDATIVO: POSSÍVEL IMPLICAÇÃO NO GLAUCOMA.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Enfermagem da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Enfermagem.

Aprovado em 14 de Dezembro de 2023

BANCA EXAMINADORA:

---

Prof. Dr. Henrique Rocha Mendonça

Currículo lattes: <http://lattes.cnpq.br/5626482657911002>

---

Profª. Me. Luciana Maria Capurro de Queiroz Oberg

Currículo lattes: <http://lattes.cnpq.br/1393524059018150>

---

Profª. Dra. Luana de Almeida Pereira Baltar

Currículo lattes: <http://lattes.cnpq.br/4611021626336913>

---

Profª. Dra. Milena Batista Carneiro

Currículo lattes: <http://lattes.cnpq.br/5810558329501936>

---

Profª. Me. Anne Caroline Rodrigues dos Santos

Currículo lattes: <http://lattes.cnpq.br/8435925975918977>

Dedico esse trabalho aos meus pais, por acreditarem em mim e não pouparem esforços para me fazer chegar até aqui. Dedico também a todos aqueles a quem esta pesquisa possa ajudar de alguma forma. A conclusão deste trabalho resume-se em dedicação, dedicação que vi ao longo dos anos em cada uma das pessoas que estiveram ao meu lado, a quem também não poderia deixar de dedicar este trabalho.

## **AGRADECIMENTOS**

À minha mãe, Viviane Dantas Maia, por ser meu porto seguro a cada passo que eu dava e por ser minha maior incentivadora, meu exemplo de força e resiliência, não importando as adversidades em que esbarramos. Ao meu pai, Anderson Luiz de Oliveira Rangel, por ser meu pilar, não medindo esforços para proporcionar que eu chegasse ao final desses últimos cinco anos. Às minhas irmãs, Isabella de Castro Rangel e Mirella de Castro Rangel, por serem minha maior motivação para ser uma pessoa melhor. Ao Carlos Eduardo Nunes Pereira, por não soltar minha mão, por escutar as um milhão de vezes que repassei minhas apresentações desta pesquisa e sempre me fornecer palavras de conforto quando eu precisava. À minha avó, Valéria Maria Rodrigues Dantas, por sempre acreditar no meu potencial. À Nyna e a Jujuba, só quem tem amigos de quatro patas entende a importância deles nesse processo. À Lara Fernandes Silva por embarcar comigo nessa vida de fazer ciência, por todos os dias de laboratório e por toda a amizade fora dele. E, por fim, ao meu Orientador Professor Doutor Henrique Rocha Mendonça, por todos os conselhos, pela ajuda e pela paciência com a qual guiou o meu aprendizado e por ter desempenhado tal função com dedicação e amizade.

Estamos tão familiarizados com a visão, que é preciso um salto de imaginação para perceber que existem problemas a serem resolvidos. Mas considere isto. Recebemos imagens minúsculas e distorcidas de cabeça para baixo nos olhos e vemos objetos sólidos separados no espaço circundante. A partir dos padrões de estimulação da retina percebemos um mundo de objetos, e isso não é nada menos que um milagre. (GREGORY, 1979)

## RESUMO

Doenças que danificam a retina, como o glaucoma, são importantes fontes de deficiências visuais, inclusive cegueira permanente. Os tratamentos disponíveis atualmente se concentram na redução da pressão intraocular, não combatendo diretamente os mecanismos de neurodegeneração, como a neuroinflamação e o estresse oxidativo. Assim, tratamentos medicamentosos que visem preservar as células da retina ou auxiliar sua regeneração são fundamentais para prevenir ou reverter esse quadro. A 4-dimetilaminochalcona (4-DAC), molécula flavonóide produzida sinteticamente, se mostrou eficaz na supressão de mediadores inflamatórios como o óxido nítrico (NO), fator necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina (IL) 1 $\beta$ , ciclooxigenase-2 (COX-2) e óxido nítrico sintase induzível (iNOS) em abordagens in-vitro. Portanto, seu potencial na proteção das células da retina é promissor. Este estudo avaliou o efeito da 4-dimetilaminochalcona na neuroproteção da retina submetida a estresse oxidativo após injeção intravítrea de peróxido de hidrogênio. Após 48 horas depois da lesão, houve um aumento de 1,6 vezes na taxa de sobrevivência de células ganglionares da retina de camundongos no grupo tratado com 4-DAC quando comparado ao DMSO após lesão causada por injeção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, indicando promoção da neuroproteção de neurônios da retina.

**Palavras-chave:** Células ganglionares da retina, estresse oxidativo, neuroproteção, glaucoma.



## ABSTRACT

Diseases that damage the retina, such as glaucoma, are major sources of visual impairment, including permanent blindness. Currently available treatments focus on reducing intraocular pressure, but do not directly combat the mechanisms of neurodegeneration, such as neuroinflammation and oxidative stress. Therefore, drug treatments aimed at preserving retinal cells or aiding their regeneration are essential to prevent or reverse this condition. 4-Dimethylaminochalcone (4-DAC), a synthetically produced flavonoid molecule, has been shown to be effective in suppressing inflammatory mediators such as nitric oxide (NO), tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), interleukin (IL) 1 $\beta$ , cyclooxygenase-2 (COX-2) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) in in-vitro approaches. Therefore, its potential in protecting retinal cells is promising. This study evaluated the effect of 4-dimethylaminochalcone on the neuroprotection of the retina subjected to oxidative stress after intravitreal injection of hydrogen peroxide. At 48 hours after injury, there was a 1.6-fold increase in the survival rate of mouse retinal ganglion cells in the 4-DAC-treated group compared to DMSO after injury caused by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> injection, indicating promotion of neuroprotection of retinal neurons.

**Keywords:** Retinal ganglion cells, oxidative stress, neuroprotection, glaucoma.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação das vesículas primárias do sistema nervoso em desenvolvimento e desenvolvimento inicial do olho.....	13
Figura 2: Anatomia do olho humano.....	14
Figura 3: Secção transversal do olho.....	15
Figura 4: Organização laminar da retina.....	17
Figura 5: Sobrevivência celular, neuroinflamação e estresse oxidativo na retina submetida e injeção intravítrea de peróxido de hidrogênio.....	19
Figura 6: Sistema de drenagem do humor aquoso.....	20
Figura 7: Via de lesão das células ganglionares da retina no glaucoma.....	22
Figura 8: Radar de Biodisponibilidade.....	32
Figura 9: A 4-dimetilaminochalcona promove a sobrevivência das células ganglionares da retina.....	34

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Compostos em utilização para o tratamento do glaucoma, sua fase de estudo e seus respectivos focos terapêuticos e mecanismos de ação.....	26
Tabela 2: Propriedades físico-químicas da 4-dimetilaminochalcona.....	35
Tabela 3: Farmacocinética da 4-dimetilaminochalcona.....	36
Tabela 4: Toxicidade da 4-dimetilaminochalcona em diversos alvos.....	36

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDNF - Fator neurotrófico derivado do encéfalo

COX-2 - Ciclooxigenase-2

CGR - Células ganglionares da retina

DMSO - Dimetilsulfóxido

IL - Interleucina

iNOS - Óxido nítrico sintase induzível

NADPH - Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina

NO - Óxido nítrico

PIO - Pressão intraocular

SN - Sistema Nervoso

SNC - Sistema nervoso central

SNP - Sistema nervoso periférico

TNF- $\alpha$  - Fator necrose tumoral alfa

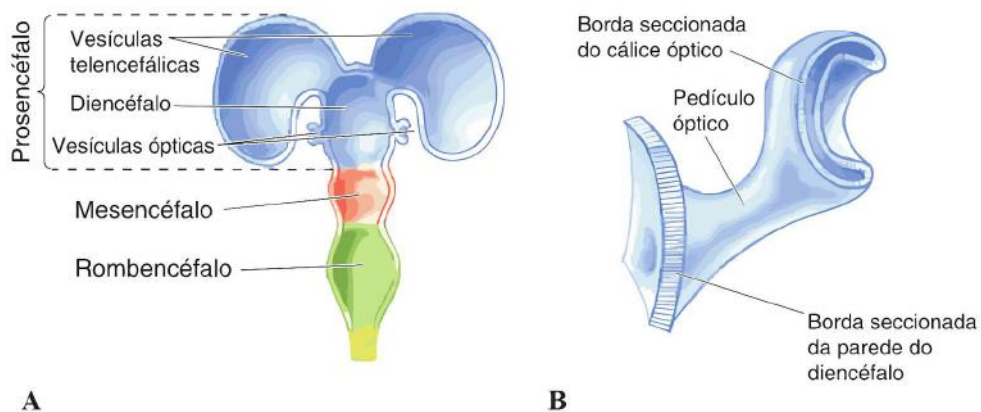
## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
1.1. FUNÇÃO VISUAL E RETINA.....	14
1.2. NEUROPROTEÇÃO E REGENERAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL..	16
1.3. PATOLOGIA DO GLAUCOMA.....	18
1.4. TRATAMENTO DO GLAUCOMA.....	21
1.5. 4-DIMETILAMINOCHALCONA COMO ESTRATÉGIA NEUROPROTETORA..	27
1.6. CRITÉRIOS PARA APROVAÇÃO COMO MEDICAMENTOS PARA ENSAIO CLÍNICO.....	28
1.7. A ENFERMAGEM EM PESQUISA EXPERIMENTAL NAS CIÊNCIAS BÁSICAS.	28
<b>2. JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>29</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>30</b>
3.1. OBJETIVOS GERAIS.....	30
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	30
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>30</b>
4.1. ANIMAIS.....	30
4.2. ESTUDO IN SÍLICO PARA AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DA 4-DIMETILAMINOCHALCONA.....	31
4.2.1. Perfil farmacológico.....	31
4.2.2. Toxicidade.....	31
4.3. INDUÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO.....	32
4.4. TRATAMENTO SISTÊMICO COM 4-DIMETILAMINOCHALCONA.....	32
4.5. HISTOLOGIA.....	33
4.6. QUANTIFICAÇÃO.....	33
4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	33
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>34</b>
5.1. Estudos in silico.....	34
5.1.1. Perfil farmacológico por SwissADME.....	34

5.1.2. Toxicidade por ProTox-II webserver.....	36
5.2. Estudo in vivo.....	37
5.2.1. Quantificação das células ganglionares da retina.....	37
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>38</b>
6.1.1. A 4-dimetilaminochalcona apresenta o perfil farmacológico de um potencial candidato a fármaco.....	38
6.1.2. A 4-dimetilaminochalcona promove a sobrevivência das células ganglionares da retina.....	39
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>40</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>41</b>
<b>ANEXO A - DOCUMENTO DE AUTORIZAÇÃO DA PESQUISA.....</b>	<b>52</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Cerca de 17 dias após a fecundação humana, o sistema nervoso (SN) começa seu desenvolvimento a partir do folheto embrionário ectoderma, formando o epitélio colunar da placa neural. A partir desse momento, as células começam a adquirir características regionais, iniciando o processo de diferenciação do prosencéfalo, mesencéfalo, rombencéfalo e medula espinal. Em torno de 22 dias do início do processo, ocorre a neurulação, onde a placa neural se fecha, dando origem ao tubo neural. A porção ectodérmica de fronteira entre o tubo neural e o ectoderma da superfície em desenvolvimento constitui a crista neural, da qual se desenvolve todos os neurônios e glias cujos corpos neuronais ficam no sistema nervoso periférico (SNP), e que vão formar as terminações nervosas, nervos e gânglios. A parte mais rostral do tubo neural, o prosencéfalo vai passar por diferenciação e surgirão as vesículas secundárias, sendo elas as vesículas ópticas e as vesículas telencefálicas. As vesículas ópticas irão se desenvolver em pedículos ópticos e cálices ópticos, os quais se tornarão os nervos ópticos e as duas retinas, respectivamente. Essa sequência de processos embriogênicos explicam como as retinas e os nervos ópticos, formados pelos axônios que conectam o olho ao diencefalo e ao mesencéfalo, partes do encéfalo, conseqüentemente parte do sistema nervoso central (SNC) e não do SNP.

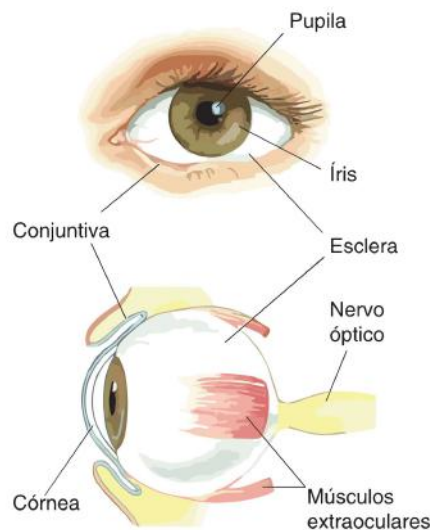


**Figura 1: Representação das vesículas primárias do sistema nervoso em desenvolvimento e desenvolvimento inicial do olho.**

**A.** Ilustração das vesículas primárias, onde em azul está representado o prosencéfalo se diferenciando em vesículas telencefálicas, vesículas ópticas e diencefalo. **B.** As vesículas ópticas desenvolvem-se, formando os pedículos ópticos e cálices ópticos. O pedículo óptico originará o nervo óptico, e o cálice óptico originará a retina. Fonte: Bear, *et al.* 2017, p. 196.

## 1.1. FUNÇÃO VISUAL E RETINA

A visão é um sistema complexo de importante função, sendo responsável pela regulação dos ritmos biológicos, controle da posição do olho e de suas propriedades ópticas e processamento de energia eletromagnética do mundo ao redor. No humanos, o sistema visual começa no olho, órgão especializado para detecção, localização e análise da luz. Macroscopicamente, as principais estruturas desse órgão são a pupila, abertura que permite que a luz entre no olho e alcance a retina, envolvendo-a está a íris, que possui dois músculos responsáveis por alterar o tamanho da pupila, tornando-a menor quando se contrai, e maior quando relaxa. Cobrindo a pupila e a íris está a córnea, na superfície externa e frontal do olho. Em continuidade à córnea está a esclera, que constitui a porção mais resistente do globo ocular. O globo ocular situa-se na órbita ocular. Inseridos na esclera estão três pares de músculos, os músculos extraoculares, os quais movimentam o globo ocular dentro das órbitas. Recobrimo estes músculos está conjuntiva, membrana que se dobra para trás desde a parte interna das pálpebras, aderindo-se à esclera. O nervo óptico, reunindo os axônios da retina, surge do olho em sua parte posterior, e atravessa a órbita alcançando a base do encéfalo, próxima à glândula hipófise (Figura 2). (Bear, *et al.* 2017)

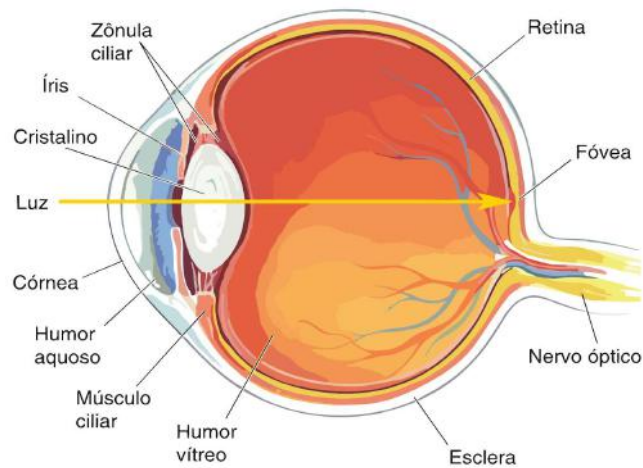


**Figura 2: Anatomia do olho humano.**

Representação gráfica das estruturas presentes no olho humano, Na parte frontal, encontra-se a córnea, responsável pela refração da luz, logo em seguida está íris, que regula a quantidade de luz que entra na pupila, conjuntiva, membrana que reveste a esclera, os músculos extraoculares, responsáveis pela movimentação ocular e o nervo óptico, que realiza a conexão as informações processadas no olho e o encéfalo. Fonte: Bear, *et al.* 2017, p. 297.



Seccionando transversalmente o olho (Figura 3), é possível acompanhar o caminho que a luz percorre ao atravessar a córnea em direção à retina. Por não possuir vasos sanguíneos, a córnea é nutrida pelo humor aquoso. Atrás da íris e suspenso por ligamentos chamados de zônula ciliar e sustentado pelos músculos ciliares, está localizado o cristalino que atua como uma lente flexível, e a alteração de seu formato permite que os olhos ajustem o foco para diferentes distâncias visuais. Ele também é responsável por dividir a parte interior do olho em dois compartimentos, um com o humor aquoso, produzido pela corpo ciliar e responsável pela pressão intraocular (PIO), e outro preenchido por humor vítreo, mais viscoso e gelatinoso, sendo sua pressão responsável por manter o globo ocular esférico.



**Figura 3: Secção transversal do olho.**

Corte transversal do olho e estruturas envolvidas na transmissão da luz da córnea à retina. O cristalino, responsável pelo ajuste de foco em diferentes distâncias, se encontra posicionado atrás da íris, sustentado pelos músculos ciliares, os quais estão conectados à esclera. tal conformação cria duas câmaras, sendo elas o humor vítreo, com características clara e aquosa, preenche a câmara anterior do olho, fornecendo nutrientes para as estruturas da frente do olho e mantém uma pressão adequada no olho, e o humor vítreo, com característica gelatinosa, se encontra na porção posterior do olho e é responsável por manter o formato esférico do olho. A retina, porção sensível a luz, converte os estímulos luminosos em informações elétricas, e em sua porção central está a fóvea, área onde se obtém máxima acuidade visual. Fonte: Bear, *et al.* 2017, p. 299.

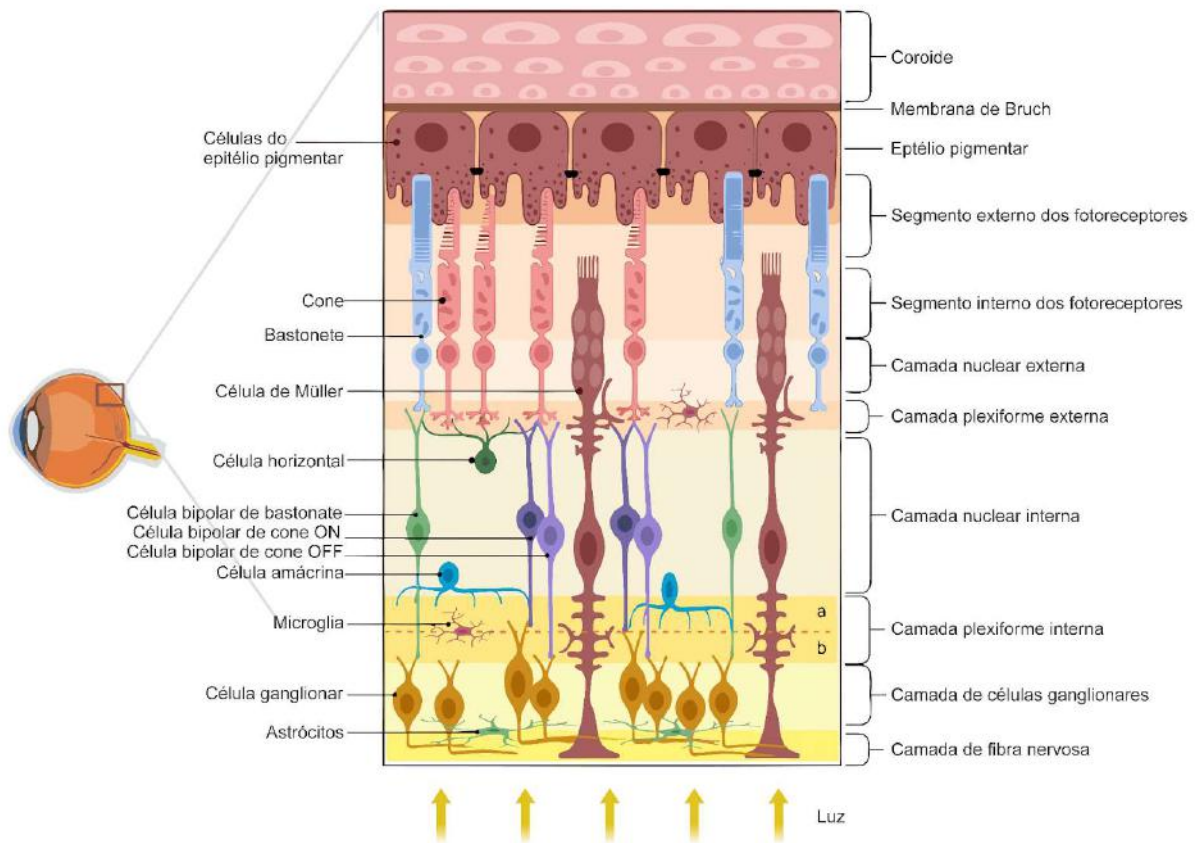
A retina, na parte posterior do olho, tem configuração de uma lâmina fina composta por camadas de neurônios, entremeadas por camadas de contatos sinápticos. Acima desta lâmina, estão o coróide, responsável pela nutrição da retina, a membrana de Bruch, e o epitélio pigmentar da retina, responsável pela manutenção dos fotorreceptores e reciclagem dos fotopigmentos, além de absorver qualquer luz que atravesse completamente a retina, reduzindo a dispersão da luz no fundo do olho. Abaixo desse epitélio, temos a camada de

segmentos dos fotorreceptores, onde se localiza o fotopigmento e ocorre a fototransdução, camada nuclear externa, contendo os corpos celulares de dois tipos de células receptoras, os cones e bastonetes, sendo essas as células fotossensíveis da retina. Os cones possuem função de transdução de luz em condições fotópicas e possuem três fotopigmentos, sendo responsáveis pela capacidade de ver cores. Os bastonetes atuam nas condições escotópicas. Já em condições mesópicas, ambas células são responsáveis pelo processamento da luz. Nessa camada está presente também prolongamentos da glia de Müller, células que promovem a homeostase e regulação fisiológica da retina. Na próxima camada da retina, temos a camada plexiforme externa, zona de contato sináptico entre os fotorreceptores e as células bipolares e horizontais. Em seguida, está a camada de nuclear interna, que contém os corpos celulares dos neurônios bipolares, horizontais e amácrinos, além da glia de Muller. As células bipolares atuam como via direta das informações saídas dos fotorreceptores até as células ganglionares. As células amácrinas e horizontais medeiam e regulam as respostas oriundas dos fotorreceptores e células bipolares. Em consequente, a camada plexiforme interna é a região de contato sináptico entre as células bipolares e amácrinas e células ganglionares. Estão presentes também a microglia, células que possuem papel de resposta imunológica na retina. Por fim, na parte mais interna da retina, está presente a camada de células ganglionares (CGR), onde estão presentes os corpos celulares das células ganglionares, as células Amácrinas deslocadas e astrócitos. As CGR células são as únicas capazes de disparar potencial de ação e são o único meio saída da informação visual da retina para o nervo óptico, sendo o único neurônio de projeção da retina. Devido a distância que seu axônio percorre até seus alvos no hipotálamo, mesencéfalo e tálamo, o corpo celular e núcleo das CGR apresentam características de neurônios típicos, a saber: Corpo celular grande, abundante substância de Nissl, Núcleo grande, com cromatina frouxa e nucléolo evidente (Figura 4) . Devido a todo esse sistema complexo, a retina é a porta de entrada de toda informação visual que vai ser processada pelo encéfalo e uma vez lesada, a informação perdida por ela não poderá mais ser recuperada.

## 1.2. NEUROPROTEÇÃO E REGENERAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Devido à organização histológica e funcional semelhante ao SNC, a regeneração dos neurônios da retina é impossibilitada, tanto no aspecto da neurogênese, bem como no aspecto de regeneração de seus axônios após lesão. Sendo assim, quando essas células são submetidas a algum processo de injúria, ocorre neurodegeneração e perda da função desempenhada pelo

segmento lesado. Dessa forma, o estudo de injúrias na via visual subcortical serve não apenas para a área do conhecimento de afecções oftalmológicas, como também é um excelente modelo de estudo do SNC, que por sua localização anatômica periférica, apresenta manipulação mais simples, apresentando divisão anatômica bem demarcada pela substância cinzenta da retina e substância branca do nervo óptico.



**Figura 4: Organização laminar da retina.**

Secção perpendicular da retina, da parte mais externa para mais interna, temos: está o coróide, a membrana de Bruch, eo epitélio pigmentar, responsável pela absorção de luz excessiva e suporte aos fotorreceptores; para camada de segmentos externos de fotorreceptores, onde ocorre a primeira etapa da fototransdução; camada nuclear externa, que contém os corpos celulares dos fotorreceptores; camada plexiforme externa, onde ocorre a interconexão celular e processamento inicial dos sinais visuais; camada nuclear interna, que abriga os corpos celulares de células bipolares, amácrinas e outros interneurônios; camada plexiforme externa, onde ocorre a comunicação das células da camada nuclear externas com as células ganglionares, além de ser a zona de processamento secundário dos sinais visuais; camada de células ganglionares da retina, que transmite os sinais visuais processados para o encéfalo através do nervo óptico. Entre as principais células encontradas na retina do olho humano, temos os fotorreceptores, os cones responsáveis por detectar cores e atuar em ambientes com condições fotópicas e mesópicas, e bastonetes que percebem a luz em em condições mesópicas e escotópicas; Células bipolares, que atuam como intermediárias na transmissão do sinal visual; As células horizontais e

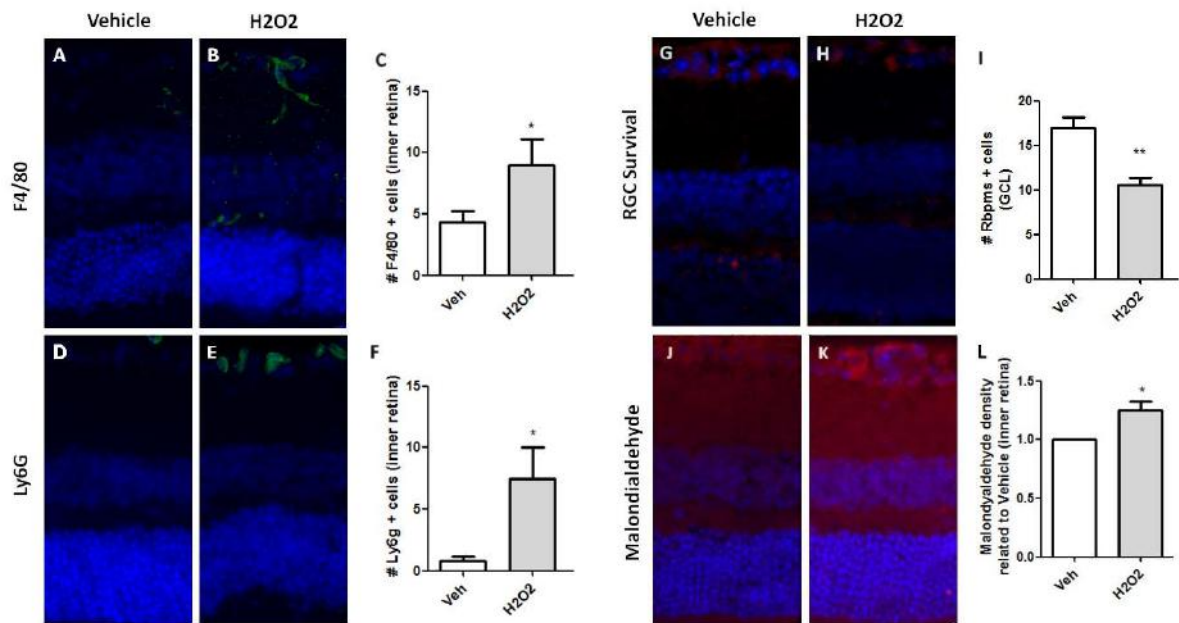
amácrinas, presentes na camada nuclear interna, auxiliam na integração e processamento das informações visuais; Além das células gliais de Müller, astrócitos e microglia, que atuam na nutrição, proteção e auxílio na sustentação da retina. As células ganglionares, localizadas na camada de células ganglionares, transmitem o sinal visual ao nervo óptico para ser enviado ao encéfalo. Fonte: Fanaro, *et al.* 2023.

Desde os estudos seminais do neuro-histologista Santiago Ramón y Cajal (1913) é conhecido que uma lesão no SNC acarreta em morte neuronal e ausência de regeneração espontânea. Entretanto, estudos mais recentes desvendaram estratégias para o estímulo da neuroproteção, neurorregeneração e neurogênese após injúria (Chung, et al. 2020). A degeneração do sistema nervoso pode ser desencadeada por estresse oxidativo, onde uma quantidade excessiva de radicais livres, derivados de um desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, culmina na oxidação de biomoléculas, perda funcional e morte celular (Barbosa, et al. 2010). Adicionalmente, o estresse oxidativo causa ativação pró-inflamatória de astrócitos e microglia, que produzem mais espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, além de secretarem citocinas e quimiocinas que atraem leucócitos, potencializando um ciclo de estresse oxidativo - neuroinflamação - neurodegeneração que se retroalimenta positivamente (Bordt e Polster. 2014; Song, et al. 2019).

Estudo ainda não publicado do nosso grupo dentro dessa linha de pesquisa mostrou que a injeção de 45mM de peróxido de hidrogênio no humor vítreo de camundongos causou morte celular na retina, reduzindo o número das células ganglionares da retina, em especial. Esse processo de morte foi acompanhado por aumento na peroxidação de lipídios, infiltrado de neutrófilos com atividade peroxidase e aumento na quantidade de macrófagos/microglia nas camadas internas da retina, sugerindo que esses eventos desencadeiam morte neuronal.

### 1.3. PATOLOGIA DO GLAUCOMA

Dentre as patologias com participação de estresse oxidativo que acometem a retina, o glaucoma se caracteriza pela perda progressiva e irreversível da acuidade visual, com quadro inicial assintomático, levando a um diagnóstico, muitas vezes tardio. É definido pela degeneração das células ganglionares da retina e alterações no nervo óptico. Essa degeneração ocorre pelo aumento da pressão intraocular. A PIO vai ser determinada pela quantidade de humor aquoso produzido pelo corpo ciliar e sua saída pelas vias de drenagem, sendo elas a rede trabecular para o canal de Schlemm, que drena para a veia episcleral, ou através da via de saída uveoscleral que drena para o espaço supracoroidal (Figura 6).

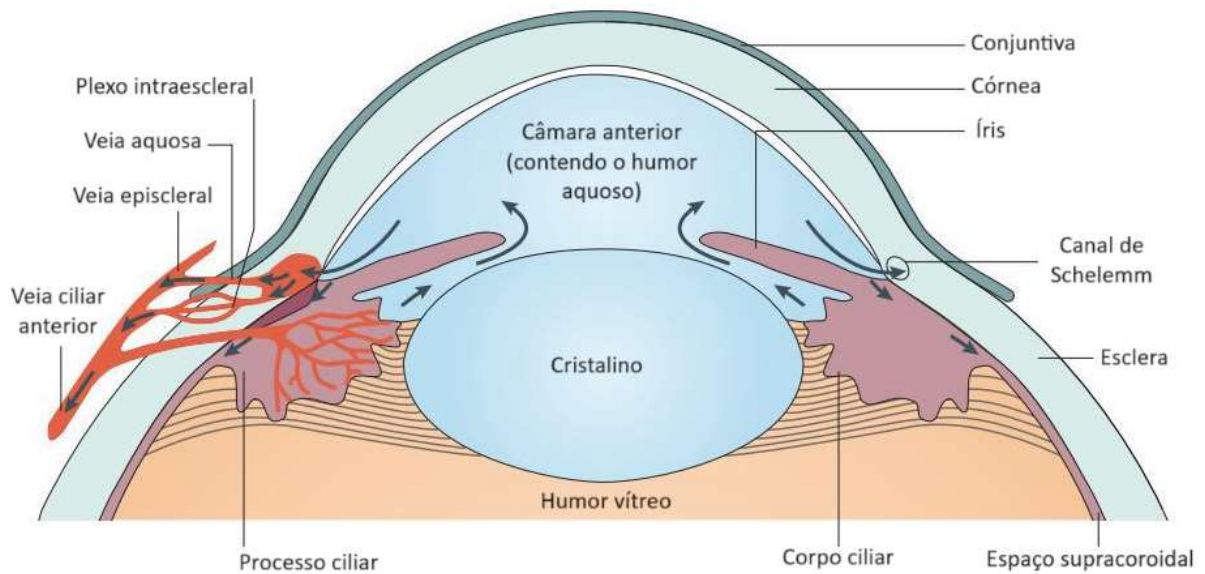


**Figura 5: Sobrevivência celular, neuroinflamação e estresse oxidativo na retina submetida e injeção intravítrea de peróxido de hidrogênio.**

**A. B. C.** As imagens representam as camadas da retina mostrando células positivas para F4/80, proteína de superfície celular que serve como marcador específico para macrófagos em mamíferos, na camada de células ganglionares da retina. Observe a maior coloração na camada de células ganglionares da retina do grupo  $H_2O_2$  quando comparado com o grupo veículo. **D. E. F.** São imagens representativas de células positivas para Ly6G, glicoproteína de superfície celular que serve como marcador específico para neutrófilos em mamíferos, na camada de células ganglionares da retina. **G. H. I.** Fotomicroscopia mostra células positivas para RbpmS, marcador neuronal, na camada de células da retina. Observe a diminuição do número de células no grupo  $H_2O_2$  quando comparado ao grupo veículo. **J. K. L.** Representação da coloração para malondialdeído, produto da peroxidação lipídica que serve como biomarcador de estresse oxidativo, na camada de células ganglionares da retina. Observe o aumento do subproduto no grupo  $H_2O_2$  quando comparado ao grupo veículo. Fonte: Mendonça, *et al.* 2023.

O acúmulo de líquido no humor aquoso, por consequência, gera aumento de pressão nos compartimentos posteriores do olho, o que leva à uma deformação biomecânica, comprimindo a cabeça do nervo óptico, onde estão os axônios das células ganglionares da retina. A lesão causada nessas estruturas é progressiva e se dá por diversos fatores.

Um desses fatores é a isquemia por constrição de vasos devido ao aumento da pressão intraocular; outro, o transporte axonal prejudicado por degeneração walleriana que inviabiliza a chegada de moléculas protetoras como o fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) (Fahy, *et al.* 2015), o que leva à anomalias na arborização dendrítica (Quaranta, *et al.* 2021).



**Figura 6: Sistema de drenagem do humor aquoso.**

O humor aquoso, produzido no corpo ciliar, preenche a câmara anterior do olho. Por meio da pupila, ele se desloca até a rede trabecular, para ser absorvido pela corrente sanguínea, ou até a via de saída uveoscleral, onde será drenado para o espaço supracoroidal. No entanto, em casos de glaucoma, este sistema pode tornar-se ineficiente, levando a uma acumulação de fluido na câmara anterior. Fonte: Weinreb, *et al.* 2016.

Além disso, a falta de sinalização de neurotrofinas, decorrentes da falha de seu transporte retrógrado, resulta em estresse oxidativo causado por aumento de espécies reativas de oxigênio (Maneesh Kumar & Agarwal. 2007). A inflamação também é potencializada pela sinalização do receptor de potencial transitório relacionado a proteína anquirina do tipo 1 (TRPA1) expressos pela células Müller, horizontais, amácrinas e ganglionares da retina após o influxo de cálcio devido ao insulto isquêmico (Souza Monteiro de Araújo, et al. 2020). Outros canais sensíveis a cálcio, como os canais pannexin 1 (Panx1), são ativados e proporcionam a geração maciça de trifosfato de adenosina (ATP) que é associado a regulação positiva de citocinas pró-inflamatórias como o fator necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) e interleucina 6 (IL-6). Além disso, as quinases serina/treonina, tais como a proteína quinase associada à morte (DAPK), a quinase N-terminal JUN (JNK), e a Proteína Quinase B - PKB (AKT), foram associadas à regulação da autofagia e apoptose através da fosforilação de genes relacionados à autofagia específicos, como Beclin-1. Essa fosforilação modula a interação de Beclin-1 com proteínas pró-apoptóticas como linfoma de células B 2 (BCL-2) ou linfoma de células B extra grande (BCL-XL). (Quaranta, et al. 2021).

Adicionalmente, ocorre astrogliose por hipertrofia e proliferação de astrócitos como mecanismo de criação de uma cicatriz glial para evitar progressão do dano, mas que age

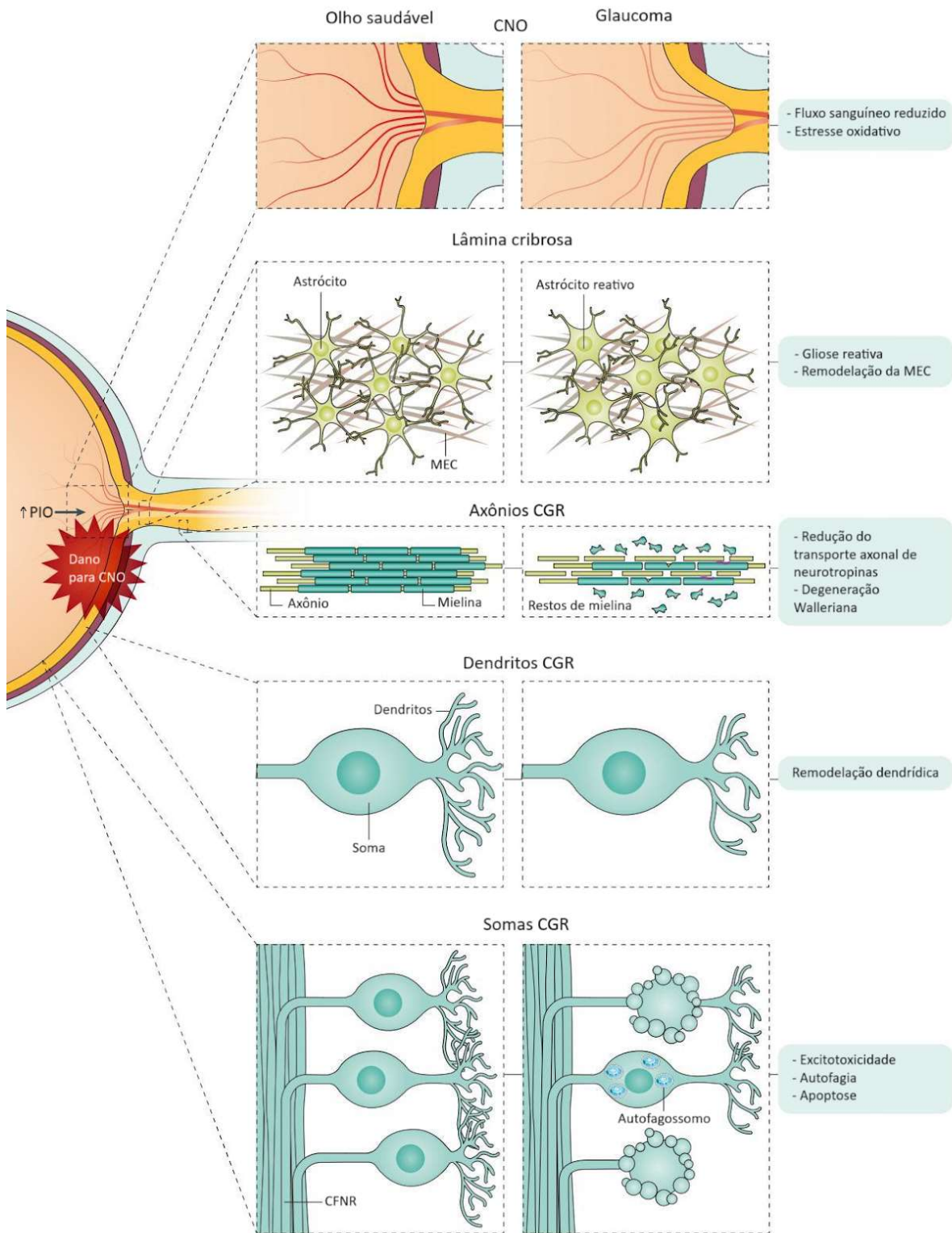
também como uma barreira impeditiva da regeneração, além de aumentar o efluxo de glutamato dos astrócitos, potencializando a autofagia e apoptose neuronal por excitotoxicidade (Prasanna, et al. 2010) (Figura 7).

#### 1.4. TRATAMENTO DO GLAUCOMA

O tratamento medicamentoso para o glaucoma é uma área que tem crescido como alvo de estudo. Atualmente, existem três classes onde essas medicações se enquadram, sendo elas em uso clínico, estudos clínicos e pré - clínicos.

Na clínica atual, os medicamentos mais recentes são os inibidores da Rho quinase, como Ripasudil, Netarsudil e o Letanoprostene que atuam no aumento do fluxo aquoso e diminuem a resistência ao fluxo, aumentando a capacidade das células endoteliais do canal de Schlemm de formar poros, causando relaxamento das fibras musculares lisas na malha trabecular e, assim, aumentam o fluxo, e também apoiam alterações no citoesqueleto do canal de Schlemm, causando diminuição nas aderências focais na malha justacanalicular, diminuindo assim a PIO (Thieme, et al. 2022; Rao, et al. 2001; Tanihara, et al. 2016; Wang, et al. 2015; Kiel, et al. 2015.).

Dentre as medicações em estudo pré clínico, estão o silenciador de genes específicos, chamados de RNA de interferência (siRNA), SYL040012 que atua no receptor beta 2 adrenérgico (ADRB2) no corpo ciliar, reduzindo a produção de humor aquoso e, conseqüentemente, a PIO (Martínez, et al. 2014). A terapia genética com o RNA CRISPR-Cas9 atuante na síntese da Aquaporina 1, proteína do corpo ciliar envolvida na produção de humor aquoso, regula o transporte transmembrana de água e reduz a PIO (Wu, et al. 2022). A terapia genética para glaucoma, com o vírus adeno-associado (AAV) que aumenta a produção de BDNF, ativando o receptor Trk B, tem mostrado redução da PIO (Osborne, et al. 2018). A terapia com células tronco mesenquimais promove a secreção de neurotrofinas e, conseqüentemente, a sobrevivência celular (Harrell, et al. 2019). O ácido alfa-lipóico diminui o estresse oxidativo e melhora a sobrevivência das CGR (Inman, et al. 2013). Além disso, o uso de ácido valpróico induz neuroproteção ao estimular a via BDNF-TrkB (Rocco, et al. 2018).



**Figura 7: Via de lesão das células ganglionares da retina no glaucoma.**

A lesão do nervo óptico acarreta a degeneração das células ganglionares da retina. Muitas são as vias que levam a essa degeneração, dentre elas estão a alteração do fluxo sanguíneo pelo aumento da pressão intraocular, aumento de radicais livres que causam estresse oxidativo, neuroinflamação mediado por liberação de citocinas inflamatórias e aumento da sinalização inflamatória pelo TRPA1, autofagia e apoptose por aumento da



excitotoxicidade pela astrogliose que remodela a matriz extracelular e cria uma cicatriz glial, além da degeneração walleriana que reduz o transporte axonal de neurotrofinas, levando à alterações nas árvores dendríticas. Fonte: Weinreb, *et al.* 2016.

Na fase de estudos clínicos, algumas medicações que estão sendo investigadas são as inibidoras da Rho quinase como o Fasudil, o implante de Bimatoprost e Travoprost, que agem reduzindo a PIO (Thieme, *et al.* 2000; Tanihara, *et al.* 2015). Também está sendo avaliado o uso da nanotecnologia para entrega de drogas, que consiste em nanopartículas de medicamentos que são administrados por meio de injeções e possuem a capacidade de contornar barreiras biológicas, direcionando a medicação exatamente para o local alvo (Occhiutto, *et al.* 2020) . Além disso, tem sido estudadas drogas a base de canabinóides, como o Tetrahydrocannabinol (THC) que interage com os receptores canabinóides 1 e 2 presentes na retina, corpo ciliar, íris, canal de Schlemm, rede trabecular e epitélio pigmentar da retina, inibindo a liberação de glutamato e aumentando o fluxo sanguíneo da cabeça do nervo óptico e reduzindo a PIO, além de mostrarem uma melhor sobrevivência das CGR, porém estudos também indicam que existe o desenvolvimento de taquifilaxia (Passani, *et al.* 2020; Plange, *et al.* 2007; Hommer, *et al.* 2020; Flach. 2002; Tomida, *et al.* 2006). Foi visto que a palmitoiletanolamida (PEA), congênera do canabinóide endógeno anandamida, também mostra redução da PIO (Gagliano, *et al.* 2011) Outro meio de redução da PIO que vem sendo estudado é o uso do trabodenoson, agonista do receptor de adenosina, que aumenta o fluxo episcleral através da redução do volume celular e remodelação da matriz extracelular nas células da rede trabecular (Chen, *et al.* 2011). Agindo também como agonista, o omidenepag isopropil (OMDI) atua no receptor de EP2 não prostaglandina seletivo diminuindo a PIO por aumento do fluxo episcleral e uveoscleral (Aihara, *et al.* 2019). Como estratégia neuroprotetora, vem sendo investigado a memantina, antagonista do receptor N-metil D-Aspartato (NMDA), que poderia prevenir a morte celular pelo influxo de cálcio, mas se mostrou ineficaz na prevenção ou diminuição da progressão do glaucoma (Weinreb, *et al.* 2018); e a brimodinida, agonista alfa-2 adrenérgico, que promove a regulação positiva de fatores antiapoptóticos, modulação da excitotoxicidade induzida pelo glutamato, inibição do óxido nítrico sintetase e inibição da atividade glial (Crisóstomo, *et al.* 2013; Krupin, *et al.* 2011). Produtos naturais também tem sido um campo explorado para o tratamento do glaucoma. Estudos demonstram que os suplementos contendo forskolina demonstraram diminuir a PIO (Mutolo, *et al.* 2016), além do extrato de Ginkgo biloba que demonstrou

impacto positivo do fluxo sanguíneo ocular e efeitos neuroprotetores e antiinflamatórios nas células ganglionares da retina (Labkovich, et al. 2020).

<b>Composto</b>	<b>Classe</b>	<b>Foco terapêutico</b>	<b>Mecanismo de ação</b>
Ripasudil	Uso clínico	Redução da PIO	Inibidor da Rho quinase nos receptores ROCK1 e ROCK 2, resultando no aumento do fluxo aquoso e diminuição da resistência ao fluxo, aumentando a capacidade das células endoteliais do canal de Schlemm de formar poros.
Netarsudil	Uso clínico	Redução da PIO	Inibidor da Rho quinase e inibidor do transportador de noradrenalina que diminui a PIO ao diminuir a resistência ao fluxo de saída.
Letanoprostene	Uso clínico	Redução da PIO	Análogo alfa da prostaglandina F2 doador de óxido nítrico exclusivo, aumenta o fluxo uveoscleral por remodelação da matriz extracelular do músculo ciliar mediada por metaloproteinases de matriz
Terapia genética	Estudo clínico	Redução da PIO	Interrupção da Aquaporina 1 pela terapia genética com RNA CRISPR-Cas9, reduzindo a PIO. E injeção intravítrea de vetores vírus adeno-associado (AAV) que aumenta a produção de BDNF, ativando o receptor Trk B, reduzindo a PIO
Terapia com células tronco	Estudo clínico	Neuroproteção	Promove a secreção de neurotrofinas que culmina na sobrevivência celular
Ácido alfa-lipóico	Estudo clínico	Neuroproteção	Ativação de Nrf2 inibe o NFκB, o fator de transcrição sensível a redox.
Ácido valpróico	Estudo clínico	Neuroproteção	Induz neuroproteção ao estimular a via BDNF-TrkB

Fasudil	Estudo pré-clínico	Redução da PIO	Inibidor da Rho quinase nos receptores ROCK1 e ROCK 2, resultando no aumento do fluxo aquoso e diminuição da resistência ao fluxo, aumentando a capacidade das células endoteliais do canal de Schlemm de formar poros.
Implante de Bimatoprost	Estudo pré-clínico	Redução da PIO	Inibidor da Rho quinase nos receptores ROCK1 e ROCK 2, resultando no aumento do fluxo aquoso e diminuição da resistência ao fluxo, aumentando a capacidade das células endoteliais do canal de Schlemm de formar poros.
Travoprost	Estudo pré-clínico	Redução da PIO	Inibidor da Rho quinase nos receptores ROCK1 e ROCK 2, resultando no aumento do fluxo aquoso e diminuição da resistência ao fluxo, aumentando a capacidade das células endoteliais do canal de Schlemm de formar poros.
Tetrahidrocannabinol	Estudo pré-clínico	Redução da PIO e Neuroproteção	Ativação dos receptores canabinóides 1 e 2 presentes na retina, corpo ciliar, íris, canal de Schlemm, rede trabecular e epitélio pigmentar da retina, inibindo a liberação de glutamato e aumentando o fluxo sanguíneo da cabeça do nervo óptico e reduzindo a PIO, e inibindo a liberação de glutamato
Trabonson	Estudo pré-clínico	Redução da PIO	Ativa a proteína G ligada aos receptores de adenosina, A1, A2A, A2B e A2C. Aumenta a facilidade de fluxo convencional através da redução do volume celular e da remodelação da matriz extracelular nas células da

			rede trabecular.
OMDI ispropil	Estudo pré-clínico	Redução da PIO	Agonista do receptor EP2 prostanóide, não prostaglandina, seletivo, culmina na diminuição da PIO, aumentando o fluxo convencional e uveoscleral.
Forscolina	Estudo pré-clínico	Redução da PIO	Receptor independente ativador de adenilato ciclase <sup>9</sup> que atua reduzindo a produção de humor aquoso.
Memantina	Estudo pré-clínico	Neuroproteção	Antagonista do receptor NMDA, reduz o influxo de cálcio.
Brimodinida	Estudo pré-clínico	Neuroproteção	Agonista alfa-2 adrenérgico, regula positivamente fatores antiapoptóticos pela modulação da excitotoxicidade induzida pelo glutamato, inibição da NO sintetase e inibição da atividade glial.
Extrato de Ginko biloba	Estudo pré-clínico	Neuroproteção	Diminui a endotelina-1, inibe a fosfodiesterase-5 e diminui a liberação de renina ao inibir a prostaglandina PGI <sub>2</sub> , culminando em vasodilatação.

**Tabela 1: Compostos em utilização para o tratamento do glaucoma, sua fase de estudo e seus respectivos focos terapêuticos e mecanismos de ação.**

A primeira coluna da tabela apresenta as medicações mais recentes para o tratamento do glaucoma. A segunda coluna classifica a fase de uso ao qual cada medicação se encontra. A terceira coluna explana o foco alvo de tratamento de cada medicação. A quarta coluna demonstra o mecanismo de ação de cada composto. Fonte: A autora. 2023.

Ao fazer uma análise geral das medicações em curso de tratamento para o glaucoma, o que pode ser observado é que a finalidade dos medicamentos hoje disponíveis, é a redução da pressão intraocular. Compostos em fase de teste que promovem a neuroproteção, seja agindo diretamente nos neurônios ou interferindo na inflamação e estresse oxidativo têm sido estudados a fim de trazer novas alternativas. Sendo assim, medidas neuroprotetoras ainda são campos em intensa investigação, que necessitam de maior número de estudos.

#### 1.5. 4-DIMETILAMINOCHALCONA COMO ESTRATÉGIA NEUROPROTETORA

A fim de contrabalançar os danos causados por esses processos, a comunidade científica busca estratégias que promovam a neuroproteção por meio da modulação do estresse oxidativo e redução da neuroinflamação, como são os casos dos estudos do nosso grupo em modelos animais de glaucoma e retinopatia diabética. Esses estudos demonstram que a deleção do gene responsável pela síntese de Galectina-3 atenua a neuroinflamação e protege a retina e o nervo óptico de camundongos diabéticos ou submetidos a esmagamento do nervo óptico, um modelo animal para o glaucoma de tensão normal (Abreu et al, 2017; Mendonça, et al. 2018). Alternativamente, a galectina-3 induziria atividade de Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina (NADPH) oxidase 2 em macrófagos e secreção de mieloperoxidase de neutrófilos, promovendo uma retroalimentação entre estresse oxidativo e inflamação (Mendonça et al, 2020). Assim, o uso de terapias anti-oxidantes e anti-inflamatórias, que estimulam a proteção dos diferentes tipos de células da retina, se mostra promissor para evitar a perda da função visual. Dentre os compostos candidatos estão as chalconas, moléculas flavonóides encontradas na natureza ou sintetizadas, que tem apresentado importantes ações anti-inflamatórias. Dentre essas ações, destacam-se a diminuição da produção de óxido nítrico (NO), fator necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina (IL) 1 $\beta$ , ciclooxigenase-2 (COX-2) e óxido nítrico sintase induzível (iNOS) (Kontogiorgis, et al. 2008). Apesar dos efeitos descritos, ao utilizarmos os descritores “(chalcones[title/abstract] OR chalcone[title/abstract]) AND (retina[title/abstract] OR retinal[title/abstract])” na busca do Medline – Pubmed em 14 de junho de 2022 foram encontrados apenas 9 artigos relacionando a terapia com chalconas e neuropatias da retina, demonstrando ser um campo de estudo ainda a ser desvendado (Lamoke, et al. 2011; Sulaiman, et al. 2014; Chen, et al. 2021; Springer, et al. 2014; Wang, et al. 2018; Ghorai, et al. 2020; Cui, et al. 2020; Luo, et al. 2022; Ruzié, et al. 2009.1).

Dentre os diversos tipos de chalconas sintéticas, a 4-dimetilaminochalcona se destaca ao apresentar potente ação antiinflamatória, tendo como mecanismos de ação, a inibição da exocitose de mastócitos e neutrófilos. Além disso, desempenha papel inibitório na expressão de COX-2 e secreção TNF- $\alpha$ , agindo também na eliminação de ânions superóxido (Kontogiorgis, et al. 2008; Ventura, et al. 2015). Por possuir ação tanto anti-oxidante quanto anti-inflamatória, o estudo do efeito do tratamento com 4-dimetilaminochalcona nos aspectos fisiopatológicos da neurodegeneração da retina é promissor.

## 1.6. CRITÉRIOS PARA APROVAÇÃO COMO MEDICAMENTOS PARA ENSAIO CLÍNICO

Para que um composto seja considerado um medicamento adequado para um ensaio clínico, uma série de critérios precisam ser respeitados. Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 9, de 20 de fevereiro de 2015 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que dispõe sobre o regulamento para a realização de ensaios clínicos com medicamentos no Brasil, para que um substância seja aprovada é necessário que ela tenha um plano de desenvolvimento onde devem ser descritos os seguintes tópicos: ingrediente farmacêutico ativo (IFA) ou substância ativa; categoria de medicamento, descrevendo se ele é sintético, biológico, fitoterápico ou radiofármaco; classe terapêutica; via de administração; mecanismo de ação; indicações a serem estudadas; objetivos gerais e a duração planejada para o desenvolvimento clínico; e informações sobre fase, desenho, desfechos, comparadores, objetivos, população a ser estudada, hipótese(s), número estimado de participantes e planejamento estatístico para cada ensaio clínico planejado.

Uma vez que a 4-dimetilaminochalcona é um composto pouco estudado, se torna necessário uma investigação mais aprofundada sobre suas propriedades farmacológicas para melhor caracterização do composto, investigando as possibilidades de seu uso terapêutico.

## 1.7. A ENFERMAGEM EM PESQUISA EXPERIMENTAL NAS CIÊNCIAS BÁSICAS

Os enfermeiros têm competências únicas em avaliação, análise, resolução de problemas e tomada de decisões, baseando-se numa série de dados das ciências sociais e da saúde. Entretanto, sua força de trabalho é desafiada pela noção de que podemos conseguir enfermeiros mais baratos e mais rápidos se não abordarmos a base biocientífica da enfermagem (Heale & Rieck Buckley, 2015; Shields & Watson, 2007). Normalmente, a força de trabalho de enfermagem é vista como um custo e não como uma proposta de valor que contribui para os resultados dos cuidados de saúde.

Além disso, ao trabalhar pelo estabelecimento de sua legitimidade científica e traçar um caminho próprio dentro do processo de desenvolvimento do conhecimento, a enfermagem se distanciou da ciência básica e passou a cultivar outros modelos de pesquisa, como a exploratória, social, histórica e teórica, possíveis de serem conduzidos sem a necessidade do aporte experimental ou da fundamentação básica das biociências (Alves, 2004). Contudo, a pesquisa no campo das ciências básicas procura estudar e solucionar muitos processos

fisiopatológicos e suas manifestações clínicas. Dessa forma, é imprescindível a inserção e envolvimento da enfermagem, enquanto ciência, em todas essas questões, abrindo perspectivas de conhecimento em diversas direções (Bond, 2001).

O enfermeiro que desenvolve a pesquisa experimental, fundamentada no conhecimento das biociências básicas, é capaz de oferecer importantes contribuições em múltiplas áreas de aplicação dos resultados da investigação, pois, conhecendo os mecanismos fisiopatológicos, pode administrar, de forma substancial, a união entre os estados fisiológico e psicológico do paciente (Bond, 2001).

Conclui-se então que é de grande importância a reafirmação da enfermagem como uma ferramenta de ciência experimental, enfatizando a importância de sua participação em pesquisas que abordam questões fundamentais das biociências básicas. A promoção da pesquisa experimental, ancorada no conhecimento das ciências básicas, capacita os enfermeiros a fornecerem contribuições significativas em várias áreas de aplicação, melhorando a compreensão dos mecanismos de patologias. Essa mudança não apenas eleva a prática clínica, mas também reforça a importância da enfermagem como uma disciplina científica essencial no campo da saúde.

## **2. JUSTIFICATIVA**

As doenças degenerativas da retina são uma realidade que afeta uma grande parcela da população mundial. Segundo o Conselho Brasileiro de Oftalmologia (CBO) em 2019, 2 a 3% da população brasileira com mais de 40 anos se enquadra nessa categoria de doença, com tal porcentagem indicando 1,5 milhões de brasileiros. Estima-se que 57,5 milhões de pessoas em todo o mundo são afetadas pelo glaucoma primário de ângulo aberto (GPAA), com uma prevalência global de 2,2% (Wiggs & Pasquale. 2017). O glaucoma é a segunda principal causa de cegueira no mundo, ficando atrás apenas da catarata, porém é a principal causa de cegueira irreversível (Thomas, et al. 2015; Alison, et al. 2020). Indivíduos com idade superior a 60 anos, com histórico familiar de glaucoma, aqueles que fazem uso de esteroides, diabéticos, assim como pessoas com alto grau de miopia, hipertensão, córnea com espessura inferior a 5 mm e histórico de lesões oculares estão mais propensos a desenvolver glaucoma. Estima-se que até o ano de 2020, aproximadamente 76 milhões de pessoas sofrerão com essa condição, e a projeção é de que esse número aumente para 111,8 milhões até 2040 (Allison, et al. 2020; Tham, et al. 2014).

No Glaucoma, há o aumento da peroxidação lipídica e danos no ácido desoxirribonucleico (DNA) na retina (Izzotti, et al. 2003; Tezel, et al. 2005) assim como aumento de microglia, astrócitos e leucócitos na cabeça do nervo óptico, que produzem espécies reativas de oxigênio (Wei, et al. 2018). Diante disso, o estresse oxidativo e a neuroinflamação são denominadores comuns que se apresentam como fatores que alteram a homeostase do meio, o que culmina em complicações severas da retina. (Baynes, 1991; Madsen-Bouterse, et al. 2008).

Assim, esse trabalho se justifica para fornecer alicerces no tratamento com 4-dimetilaminochalcona em modelos animais de retinopatias onde o estresse oxidativo e neuroinflamação sejam protagonistas do processo neurodegenerativo, como o glaucoma, por exemplo. Adicionalmente, os resultados contribuirão fortemente para o desenvolvimento de estratégias neuroprotetoras de outras regiões do Sistema Nervoso Central, fornecendo esperança de melhora na qualidade de vida de pacientes neurológicos.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. OBJETIVOS GERAIS**

Esse trabalho tem como objetivo geral investigar o efeito da 4-dimetilaminochalcona na neuroproteção da retina submetida a estresse oxidativo.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- a) Avaliar as propriedades farmacológicas da 4-dimetilaminochalcona, como candidato a medicamento.
- b) Avaliar a sobrevivência das células da camada de células ganglionares da retina dos camundongos submetidos à injeção intravítrea de peróxido de hidrogênio e sua modulação após tratamento sistêmico com 4-dimetilaminochalcona.

### **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **4.1. ANIMAIS**

Foram utilizados camundongos da linhagem Swiss, entre 2 e 3 meses de idade, mantidos no Biotério Experimental de Roedores do Instituto de Biodiversidade e Sustentabilidade NUPEM, com controle de ciclo claro/escuro (12h/12h), sob ambiente ventilado e climatizado durante todo o período de experimentação.



Todos os procedimentos experimentais obedeceram às normas de utilização de animais de laboratório do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Em todos os procedimentos, os animais foram anestesiados por injeção intraperitoneal de ketamina (100mg/kg) e xilazina (15mg/kg).

O projeto foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio de Janeiro, ao qual foi aprovado e registrado com o número de ordem 067/22.

## 4.2. ESTUDO IN SÍLICO PARA AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DA 4-DIMETILAMINOCALCONA

Para a avaliação das propriedades farmacológicas da 4-dimetilaminochalcona, foram realizados testes *in silico* utilizando softwares para definição das propriedades farmacocinéticas, toxicológicas e parâmetros ADME (absorção, distribuição, metabolismo e excreção).

### 4.2.1. Perfil farmacológico

Os parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos, tais como biodisponibilidade, lipofilicidade, absorção e metabolização enzimática; a regra de Lipinski; e a química medicinal da 4-dimetilaminochalcona, foram analisados utilizando a ferramenta SwissADME (<https://www.swissadme.ch/>). Esta ferramenta utiliza um banco de dados que fornece informações com base em resultados experimentais e modelos quantitativos de relação estrutura-propriedade (QSPR), oferecendo análises de alta qualidade personalizadas que são correlacionadas com o composto de interesse. Isso permite a realização de análises de semelhança e predição com base em dados confiáveis e precisos. (Daina, et al. 2017).

### 4.2.2. Toxicidade

Para avaliação da toxicidade, foi utilizado ProTox-II webservice ([https://tox-new.charite.de/protox\\_II/](https://tox-new.charite.de/protox_II/)) cujo esquema de predição categoriza a substância de analisada em diferentes níveis de toxicidade, sendo eles toxicidade oral, toxicidade de órgãos e desfechos toxicológicos, os quais incluem imunotoxicidade, carcinotoxicidade, mutagenicidade e citotoxicidade, e DL50. (Banerjee, et al. 2018)

A codificação por Sistema Simplificado de Entrada de Linha Molecular (SMILES) da 4-dimetilaminochalcona para a realização das predições foi obtida no site Pubchem (Kim, et al. 2023).

#### 4.3. INDUÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO

Para a indução de estresse oxidativo na retina, os animais foram profundamente anestesiados através de injeção intraperitoneal com solução salina contendo ketamina (100mg/kg) e xilazina (15mg/kg), e submetidos à injeção intravítrea de 3 microlitros de Peróxido de hidrogênio a 66,8mM ou salina 0,9%, de acordo com protocolo instituído pelo laboratório. Um orifício gerado no limbo entre a íris e a esclera com auxílio de uma agulha gauge 33, e os 3 microlitros de humor vítreo foram retirados e 3 microlitros da solução foram injetados com uma seringa Hamilton de capacidade de 10 microlitros.

Os grupos experimentais foram divididos da seguinte forma:

- a) Grupo Sham - globos oculares foram submetidos à injeção intravítrea com salina 0,9% e injeção intraperitoneal de veículo.
- b) ROS - globos oculares que foram submetidos à injeção intravítrea com peróxido de hidrogênio e injeção intraperitoneal de veículo.
- c) Grupo Sham + 4-DAC - globos oculares foram submetidos à injeção intravítrea com salina 0,9% e injeção intraperitoneal com chalcona 4.
- d) Grupo ROS + 4-DAC - globos oculares foram submetidos à injeção intravítrea com peróxido de hidrogênio e injeção intraperitoneal com chalcona 4.

#### 4.4. TRATAMENTO SISTÊMICO COM 4-DIMETILAMINOCHALCONA

O tratamento sistêmico com 4-dimetilaminochalcona foi realizado uma hora antes da injeção intravítrea de peróxido de hidrogênio ou salina 0,9%, seguido por novas aplicações a cada 24 horas, realizada por meio da contenção do animal e aplicação intraperitoneal de 4-dimetilaminochalcona 10mg/kg diluída em dimetilsulfóxido (DMSO) ou do veículo DMSO, até a última aplicação, uma hora antes da eutanásia, 48 horas após a indução de estresse oxidativo.

#### 4.5. HISTOLOGIA

Para avaliação histológica, quarenta e oito horas após a indução de estresse oxidativo, os animais foram sacrificados por overdose de anestésicos inalatórios Isoflurano, seus globos oculares foram coletados e armazenados em paraformaldeído 4% por 24 horas. Posteriormente, os tecidos foram desidratados por meio de uma série de soluções crescentes de álcool (70%, 92,8%, 100%, por vinte minutos em cada), em seguida foram clarificados em xilol por 20 minutos e impregnados com paraplast pelo mesmo tempo, após isso, foram emblocados com parafina. Utilizando um micrótomo, foram realizados cortes histológicos transversais de 5  $\mu\text{m}$  de espessura. As secções foram dispostas em lâminas, previamente gelatinizadas. Os cortes reidratados em soluções de xilol, álcool (100%, 92,8%, 70%), por um minutos em cada e tampão fosfato-salino (PBS), por dois minutos, respectivamente, seus núcleos corados com hematoxilina por cinco minutos. Seguidamente, as lâminas foram lavadas em água e, novamente, desidratadas e montadas com Entellan. As imagens são registradas em microscópio óptico acoplado à câmera fotográfica.

#### 4.6. QUANTIFICAÇÃO

Para quantificar as CGRs nos cortes histológicos foi utilizado o critério morfológico quanto ao seu núcleo e tamanho. Foram consideradas como CGR as células que se enquadraram dentro de um dos seguintes critérios:

- a) Núcleo: núcleo grande e pálido com um nucléolo proeminente e de coloração escura (Dräger & Olsen. 1981).
- b) Área nuclear: maior ou igual a 20  $\mu\text{m}^2$  (Janssen, et al. 2013).

#### 4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística da normalidade das amostras foi avaliada e confirmada através do teste Shapiro-Wilk. Teste T de uma amostra foi utilizado para comparar a diferença relativa do número de células da camada de células ganglionares da retina (CCGR) dos diferentes grupos, com o grupo controle (DMSO salina) normalizado para 1, em 100 micrômetros de extensão da CCGR. A fim de comparar os grupos experimentais entre si, foi utilizado o teste One-way ANOVA, seguido pelo teste de comparações múltiplas de Newman Keuls. A diferença foi considerada significativa quando  $p < 0,05$ . Os gráficos representam média e erro padrão da média e a linha pontilhada representa o grupo DMSO salina.

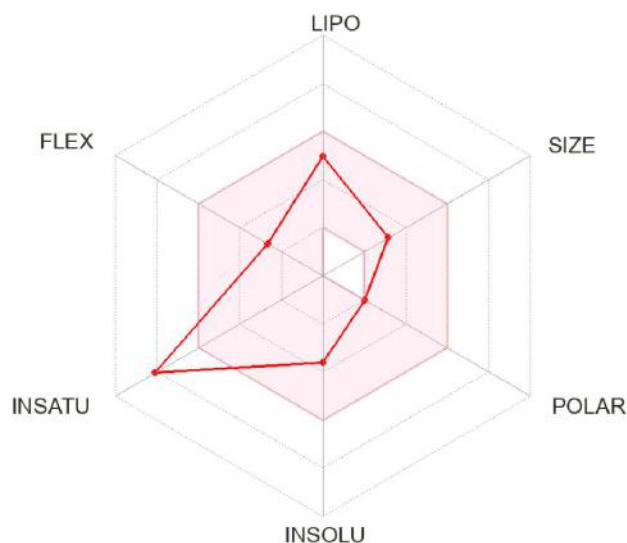
## 5. RESULTADOS

### 5.1. Estudos in silico

#### 5.1.1. Perfil farmacológico por SwissADME

A 4-dimetilaminochalcona, de acordo com o radar de biodisponibilidade da ferramenta SwissADME (Figura 8), é uma molécula com característica insaturada, evidenciado pelo deslocamento de um dos vértices do polígono para fora do limite do eixo da saturação. O não deslocamento dos vértices do polígono para os eixos de tamanho, polaridade, insolubilidade, flexibilidade e lipossolubilidade, assim como os valores descritos na Tabela 1, evidenciam que a chalcona possui baixo peso molecular com 251.32 g/mol, é polar com área topológica de superfície polar (TPSA) de 20.31 Å<sup>2</sup>, é flexível com o número de 4 ligações rotativas, é solúvel em água com a fração de carbonos sp<sup>3</sup> de 0,12 e LogS = -3.62, e possui lipossolubilidade com Log  $P_{o/w}$  (XLOGP3) = 3,20. Além disso, o SwissADME fornece o perfil de semelhança com outros medicamentos, afirmando que a 4-dimetilaminochalcona respeita as cinco regras de Lipinski, o que indica que a molécula tem potencial para ser um fármaco com bom perfil de biodisponibilidade.

No que diz respeito a análise in silico da farmacocinética, que avalia os comportamentos ADME, conforme expresso na Tabela 2, a 4-dimetilaminochalcona possui alta absorção gastrointestinal, em modelo de previsão para absorção gastrointestinal humana passiva (HIA), e permeação da barreira hematoencefálica (BHE), não sendo substrato para a glicoproteína-P (P-gp), uma proteína de permeabilidade transmembrana que age expulsando toxinas e xenobióticos das células.



**Figura 8: Radar de Biodisponibilidade**

O hexágono define cada propriedade e uma faixa de valores ideais, tal faixa é representada como a área rosa. Para ser considerado como semelhante a um medicamento, a linha vermelha do composto deve estar totalmente dentro da área rosa. Como referência disponibilizada pela base de dados do SwissADME, estão os valores de: lipofilicidade: XLOGP3 entre -0,7 e + 5,0; tamanho: MW (peso molecular) entre 150 e 500 g/mol; polaridade: TPSA entre 20 e 130 Å<sup>2</sup>; insolubilidade: log S entre -6,0 e 0; insaturação: fração de carbonos sp<sup>3</sup> entre 0,25 e 1; flexibilidade: entre 0 e 9 ligações rotativas. Fonte: Daina, *et al.* 2017.

Propriedades físico-químicas	
Fórmula	C17H17NO
Peso molecular	251,32g/mol
Fração Csp <sup>3</sup>	0,12
Núm. ligações rotativas	4
TPSA <sup>?</sup>	20,31Å <sup>2</sup>
Lipofilicidade	
Log P <sub>o/w</sub> (XLOGP3) <sup>?</sup>	3.20
Solubilidade em água	
Log S (ESOL) <sup>?</sup>	-3,62
Classificação <sup>?</sup>	Solúvel
Semelhança com drogas	
Lipinski <sup>?</sup>	Sim; 0 violação

**Tabela 2: Propriedades físico-químicas da 4-dimetilaminochalcona.**

A tabela apresenta as propriedades físico-químicas da chalcona 4, tal qual sua fórmula, peso molecular, fração de carbonos hibridizados, número de ligações rotativas e área topológica de superfície polar. Além disso, traz o Log P<sub>o/w</sub> (XLOGP3) para classificação da lipofilicidade, LogS e classificação de solubilidade, e se a molécula respeita ou não a regra de Lipinski sobre biodisponibilidade. Fonte: Daina, *et al.* 2017.

Farmacocinética	
Absorção GI <sup>?</sup>	Alto
Permeante BBB <sup>?</sup>	Sim
Substrato P-gp <sup>?</sup>	Não

**Tabela 3: Farmacocinética da 4-dimetilaminochalcona.**

O SwissADME reúne em sua seção de Farmacocinética previsões provenientes de modelos especializados que analisam as propriedades ADME da molécula em estudo. Esses modelos oferecem informações sobre absorção, permeabilidade e substrato enzimático. Eles geram uma classificação binária, indicando se há probabilidade de a molécula atuar como substrato para P-gp ou permear a barreira hematoencefálica, expressa como "Sim" ou "Não", além de indicar o nível de absorção gastrointestinal. Fonte: Daina, *et al.* 2017.

### 5.1.2. Toxicidade por ProTox-II webserver

Após a análise de dados do pelo ProTox-II, foi constatado que a 4-dimetilaminochalcona possui uma dose letal para 50% do grupo (DL50) de 3000mg/kg e se encontra na categoria 5 - pode ser perigoso se ingerido ( $2.000 < DL50 \leq 5.000$ ), a classificação é feita pelo sistema globalmente harmonizado de classificação de rotulagem de produtos químicos (GHS) e vai de 1 até 6, sendo 1 fatal se engolido e 6 não tóxico. Na classificação de toxicidade orgânica do ProToxII, a 4-dimetilaminochalcona mostrou-se inativa para hepatotoxicidade, com índice de confiança de 0,66. Nos pontos finais de mutagenicidade e imunotoxicidade, a chalcona 4 é moderadamente ativa na carcinogênese e ativa na imunotoxicidade, com confiança de 0,66 e 0,71 respectivamente. Por outro lado, não possui potencialmente mutagênico e citotóxico, com índice de confiança de 0,71 e 0,79, respectivamente.

Relatório de modelo de toxicidade				
Classificação	Alvo	Forma abreviada	Predição	Probabilidade
Toxicidade de órgãos	Hepatotoxicidade	Dfili	Inativo	0,66
Pontos finais de toxicidade	Carcinogenicidade	câncer	Ativo	0,66
Pontos finais de toxicidade	Imunotoxicidade	imuno	Ativo	0,71
Pontos finais de toxicidade	Mutagenicidade	mutagênico	Inativo	0,71
Pontos finais de toxicidade	Citotoxicidade	cito	Inativo	0,79

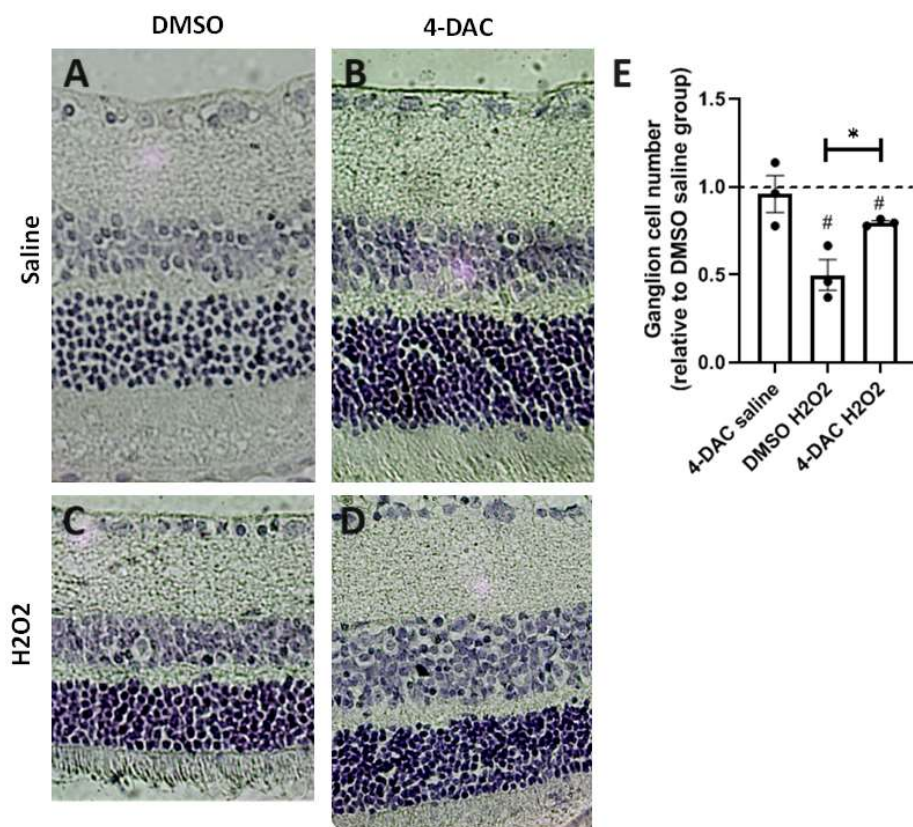
**Tabela 4: Toxicidade da 4-dimetilaminochalcona em diversos alvos.**

O ProTox-II realiza a previsão e classificação de moléculas em relação a um alvo, indicando se são inativas (representadas em verde) ou ativas (destacadas em vermelho). Quanto mais intensa a cor, maior é a probabilidade de interação. Na parte direita, a probabilidade oferece uma estimativa de confiança associada à previsão. Fonte: Banerjee, *et al.* 2018.

## 5.2. Estudo in vivo

### 5.2.1. Quantificação das células ganglionares da retina

Para avaliar se a 4-dimetilaminochalcona promove a neuroproteção das células ganglionares da retina após injeção intravítrea de peróxido de hidrogênio, analisamos imagens da retina seccionada transversalmente e coradas com hematoxilina após 48 da injeção intravítrea de  $H_2O_2$ . Foi observado que a camada de células ganglionares da retina dos animais DMSO salina (4,29 CGR a cada  $100\mu m$ ) e 4-DAC salina (3,94 CGR a cada  $100\mu m$ ) foram estatisticamente iguais em números de células ganglionares da retina em condições normais. Após a injeção intravítrea de peróxido de hidrogênio, foi encontrado um aumento na taxa de sobrevivência de CGR de camundongos 4-DAC  $H_2O_2$ , quando comparado aos animais DMSO  $H_2O_2$  (Figura 9). Esse resultado mostra que a administração intraperitoneal de 4-dimetilaminochalcona de maneira sistêmica favorece a sobrevivência de CGR após injeção intravítrea de peróxido de hidrogênio.



**Figura 9: A 4-dimetilaminochalcona promove a sobrevivência das células ganglionares da retina.**

**A, B.** Fotomicrografias mostrando CGR coradas com hematoxilina em animais DMSO (A) e 4-DAC (B) sem lesões. **C, D.** Fotomicrografias mostrando CGR coradas com hematoxilina em animais DMSO (C) e 4-DAC (D)

após injeção intravítrea de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. **F.** Gráfico representando a densidade de RGC em retinas de animais 4-DAC salina, DMSO H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> E 4-DAC H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> quando comparadas com animais DMSO salina. Observe a melhora na taxa de sobrevivência em animais 4-DAC H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>\* Representa p < 0,05 no Teste T de Student não pareado. Fonte: Autora, 2023.

## 6. DISCUSSÃO

6.1.1. A 4-dimetilaminochalcona apresenta o perfil farmacológico de um potencial candidato a fármaco.

O estudo de das propriedades farmacocinéticas por meio de ferramentas in silico é de fundamental para compreender a bioatividade e biodisponibilidade, aumentando sua chance de eficácia. Dentre a variedade de testes em sílico, um dos fatores que busca ser avaliado é a propriedade ADME, onde são avaliados os parâmetros de absorção, distribuição, metabolismo e excreção a partir da estrutura molecular do composto em análise (Tian, et al. 2015). Vale destacar o trabalho de Lipinski, et al. 2001, que analisou compostos com atividade oral para estabelecer intervalos físico-químicos com alta probabilidade de serem eficazes como medicamentos administrados por via oral, conhecidos como “semelhantes a medicamentos”. A chamada "Regra de Cinco" delineou a relação entre os parâmetros farmacocinéticos e físico-químicos nesse contexto.

O estudo in silico para a 4-dimetilaminochalcona indicou que ela é uma molécula capaz de ser transportada transmembrana, além de ter boa disponibilidade oral de acordo com as cinco regras de Lipinski. Outro fator que também vai influenciar diretamente na determinação das propriedades ADME é a lipofilicidade (Arnott & Planey. 2012), característica ao qual a chalcona 4 se enquadra. Segundo Di & Kerns. 2016, compostos lipofílicos são rapidamente absorvidos de forma sistemática pela via de administração intraperitoneal, corroborando com a eficácia deste presente estudo. Quanto a solubilidade em água, chalcona 4 se mostrou solúvel, o que, apesar de diminuir a permeabilidade celular e aumentar a velocidade de excreção, torna mais fácil a administração por via oral e diminui os custos e dificuldades de formulação durante o desenvolvimento clínico (Sorkun, et al. 2019).

Além da análise dos parâmetros ADME, foi realizado o estudo in silico de toxicidade. Este estudo visa antecipar a toxicidade de compostos químicos por meio da avaliação de indicadores como mutagenicidade, carcinogenicidade, medida quantitativa da DL50, hepatotoxicidade, imunotoxicidade e citotoxicidade (Banerjee et al., 2018). Os dados obtidos demonstraram que a chalcona 4 é uma molécula bem tolerada, classificada pelo GSH como uma categoria segura com DL50 de 3000mg/kg, expressivamente abaixo dos 10mg/kg



utilizados no presente estudo. Quanto a toxicidade orgânica, a chalcona 4 se mostrou inativada, reduzindo o risco de lesão hepática, além de também ser inativa para mutagenicidade e citotoxicidade, o que diminuindo o risco de disfunção orgânica e mutação genética (Lynnette & Pearson. 1996), reduzindo o risco de complicações de saúde a longo prazo. Quanto às propriedades imunotóxica e carcinogênica, chalcona 4 se mostrou ativada, fato que requer maior atenção.

Na literatura atual, existem estudos que indicam propriedades antitumorais tanto nas chalconas naturais, quanto em moléculas sintetizadas (Constantinescu & Lungu. 2021). Além disso, segundo Karthikeyan, et al. 2015, a manipulação e hibridização das chalconas, ligadas a estruturas anticancerígenas, demonstram sinergia ou adição de atividades farmacológicas, resultando na descoberta de diversas chalconas com potencial terapêutico para diversos tipos de câncer. Quanto a imunotoxicidade, o uso de drogas com esse potencial deve ser avaliado quanto seu custo-benefício, ao exemplo de medicamentos imunossuppressores usados para prevenção a rejeição de órgãos em pacientes transplantados, que também podem aumentar o risco de infecções, ou o uso medicamentos imunoestimulantes que podem aumentar a resposta imunitária contra as células cancerígenas, mas também podem causar reações autoimunes e reações de hipersensibilidade (Descotes. 2005). Por tanto, é essencial realizar investigações de toxicidade *in vitro* e *in vivo* para identificar possíveis modificações estruturais capazes de mitigar esses efeitos.

#### 6.1.2. A 4-dimetilaminochalcona promove a sobrevivência das células ganglionares da retina

O papel emergente das chalconas em contrabalançar a patogênese de uma variedade de doenças tem sido amplamente estudada nos últimos anos. As chalconas tem sido apontadas como supressores da patogênese de vários tipos de câncer, inibindo o crescimento tumoral por meio de interferência na divisão celular, o controle da degradação celular, a indução da apoptose e a regulação da resposta imunológica às células cancerígenas e aos mediadores inflamatórios (Malla, et al. 2022). A atividade anti-*Mycobacterium tuberculosis* das chalconas está associada à alternativas disponíveis para tratar cepas resistentes de Mtb (Rodríguez-Silva, et al. 2022). As chalconas também agem inibindo as principais proteínas de replicação do vírus Zika (Mottin, et al, 2022). Além disso, foi demonstrado que a administração do derivado de chalcona L2H17 (3,4-dihidroxi-2'-metiléter cetona) protegeu RGCs contra lesão induzida por estresse oxidativo, apoiando um papel citoprotetor das chalconas em RGCs (Wang, et al. 2018). Ademais, o tratamento intraperitoneal com chalcona demonstrou

prevenção da neovascularização patológica na retina isquêmica (Lamoke, et al. 2011), corroborando com a presente pesquisa nos quais os resultados mostraram que 48 horas após a lesão por injeção intravítrea de  $H_2O_2$ , houve um aumento de 1,6 vezes na taxa de sobrevivência de células ganglionares da retina de camundongos 4-DAC  $H_2O_2$  quando comparado ao DMSO  $H_2O_2$ , indicando promoção da neuroproteção de CGR.

## **7. CONCLUSÃO**

A 4-dimetilaminochalcona poderá participar no tratamento de doenças degenerativas da retina, como o glaucoma. No entanto, a função precisa da 4-dimetilaminochalcona na neuroproteção da retina em patologias como o glaucoma requer investigação aprofundada, deixando assim um campo que a enfermagem, enquanto produtora de ciência, pode explorar e contribuir com sua prática clínica.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, C. A.; DE LIMA, S. V.; MENDONÇA, H. R. ; GOULART, C. O; MARTINEZ, A. M. Absence of galectin-3 promotes neuroprotection in retinal ganglion cells after optic nerve injury. **Histol Histopathol**, v. 32, n. 3, p. 253-262, mar 2017. DOI: 10.14670/HH-11-788. Disponível em: [https://www.hh.um.es/Abstracts/Vol\\_32/32\\_3/32\\_3\\_253.htm](https://www.hh.um.es/Abstracts/Vol_32/32_3/32_3_253.htm). Acesso em: 26 jun. 2022.
- AHMAD, A.; AHSAN, H. Biomarkers of inflammation and oxidative stress in ophthalmic disorders. **J Immunoassay Immunochem**, v. 41, n. 3, p. 257-271, maio. 2020. DOI: 10.1080/15321819.2020.1726774. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15321819.2020.1726774>. Acesso em: 22 jun. 2022.
- AIHARA, M.; LU, F.; KAWATA, H.; et al. Pharmacokinetics, Safety, and Intraocular Pressure-Lowering Profile of Omidenepag Isopropyl, a Selective, Nonprostaglandin, Prostanoid EP2 Receptor Agonist, in Healthy Japanese and Caucasian Volunteers (Phase I Study). **J Ocul Pharmacol Ther**. v. 35, n. 10, p. 542-550, 2019. DOI:10.1089/jop.2019.0044. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31674861/>. Acesso em: 17 nov. 2023.
- ALLISON, K.; PATEL, D.; ALABI, O. Epidemiology of Glaucoma: The Past, Present, and Predictions for the Future. **Cureus**. v. 12, n. 11, 24 nov. 2020. DOI:10.7759/cureus.11686. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7769798/>. Acesso em: 22 nov. 2023.
- ALVES, L. M. M. *et al.* Pesquisa básica na enfermagem. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 12, n. 1, p. 122–127, fev. 2004. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rlae/a/GkPdR7wjSWbG4cMwv5hqvXB/#>. Acesso em: 14 set. 2023.
- ANDERSON, O. A.; BAINBRIDGE, J. W.; SHIMA, D. T. Delivery of anti-angiogenic molecular therapies for retinal disease. **Drug Discovery Today**, v. 15, n. 7-8, p. 272-282, abr. 2010. DOI: 10.1016/j.drudis.2010.02.004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20184967/>. Acesso em: 25 jun. 2022.
- BANERJEE, P.; ECKERT, A. O.; SCHREY, A. K.; PREISSNER, R. ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. **Nucleic Acids Res**. v. 46, 2018. DOI:10.1093/nar/gky318. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6031011/>. Acesso em: 22 nov. 2023
- BARBER, A. J. A new view of diabetic retinopathy: a neurodegenerative disease of the eye. **Progress Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 27, n. 2, p. 283-290. abr. 2003. DOI:10.1016/S0278-5846(03)00023-X. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12657367/>. Acesso em: 25 jun. 2022.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, ago. 2010. Disponível em: <https://periodicos.puc-campinas.edu.br/nutricao/article/view/9401>. Acesso em: 15 jun. 2022.
- BAYNES, J. W. Role of Oxidative Stress in Development of Complications in Diabetes. **Diabetes**, v. 40, n. 4, p. 405, 1991. Disponível em:

<https://diabetesjournals.org/diabetes/article/40/4/405/7725/Role-of-Oxidative-Stress-in-Development-of>. Acesso em: 28 jun. 2022.

BEAR, M. F.; PARADISO, M. A.; CONNORS, Barry, W. **Neurociências: desvendando o sistema nervoso**. Porto Alegre: Artmed, 4a Edição 2017.

BOND, E. F.; HEITKEMPER, M.M. Physiological nursing science: emerging directions. **Res Nurs Health**, v. 24, n. 5, p. 345-8, out. 2001. DOI: 10.1002/nur.1035. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11746064/>. Acesso em: 14 set. 2023.

BORDT, E. A.; POLSTER, B. M. NADPH oxidase- and mitochondria-derived reactive oxygen species in proinflammatory microglial activation: a bipartisan affair? **Free Radic Biol Med**, v. 76, p: 34-46, nov. 2014. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.07.033. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25091898/>. Acesso em: 28 jun. 2022.

CHEN, H.; YAN, T.; SONG, Z.; YING, S.; WU, B.; JU, X.; YANG, X.; QU, J.; WU, W.; ZHANG, Z.; WANG, Y. MD2 blockade prevents modified LDL-induced retinal injury in diabetes by suppressing NADPH oxidase-4 interaction with Toll-like receptor-4. **Exp Mol Med**, v. 53, n. 4, p. 681-694, abr. 2021. DOI: 10.1038/s12276-021-00607-w. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8102522/>. Acesso em: 15 jun. 2022.

CHEN, J.; RUNYAN, S. A.; ROBINSON, M. R. Novel ocular antihypertensive compounds in clinical trials. **Clin Ophthalmol**. v. 5, p. 667-677, 2011. DOI:10.2147/OPHTH.S15971. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21629573/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

CHUNG, D.; SHUM, A.; CARAVEO, G. GAP-43 and BASP1 in Axon Regeneration: Implications for the Treatment of Neurodegenerative Diseases. **Front Cell Dev Biol**, v. 3, n. 8, p. 567537, set. 2020. DOI: 10.3389/fcell.2020.567537. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33015061/>. Acesso em: 28 jun. 2022.

CHRYSOSTOMOU, V.; REZANIA, F.; TROUNCE, I. A.; CROWSTON, J. G. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in glaucoma. **Curr Opin Pharmacol**. v. 13, n.1, p. 12-15, 2013. DOI:10.1016/j.coph.2012.09.008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23069478/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

CONSTANTINESCU, T.; LUNGU, C. N. Anticancer Activity of Natural and Synthetic Chalcones. **Int J Mol Sci**. v. 22, n. 21, p. 11306, 20 out. 2021. DOI:10.3390/ijms222111306. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8582663/>. Acesso em: 05 dez. 2023.

CUI, Y.; LI, Y.; HUANG, N.; XIONG, Y.; CAO, R.; MENG, L.; LIU, J.; FENG, Z. Structure based modification of chalcone analogue activates Nrf2 in the human retinal pigment epithelial cell line ARPE-19. **Free Radic Biol Med**, v. 20, n.148, p. 52-59, fev. 2020. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.12.033. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31887452/>. Acesso em: 22 jun. 2022.

DAVIDSON, P. M. (2020), Is nursing a STEM discipline – Does it matter and what can we do about it?. **J Adv Nurs**, v. 76, p. 1-3, set. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/jan.14212>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jan.14212>. Acesso em: 14 set. 2023.

DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: uma ferramenta web gratuita para avaliar a farmacocinética, a semelhança com medicamentos e a compatibilidade com a química medicinal de pequenas moléculas. **Sci Rep.** v. 7, n. 42717, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep42717>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23069478/>. Acesso em: 22 nov. 2023.

DESCOTES, J. Immunotoxicology: role in the safety assessment of drugs. **Drug Saf.** v. 28, n. 2, p. 127-136, 2005. DOI: [doi:10.2165/00002018-200528020-00004](https://doi.org/10.2165/00002018-200528020-00004). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15691223/>. Acesso em: 05 dez. 2023.

DI, L.; KERNS, E. H. Formulation. *In*: DI, L.; KERNS, E. H. **Drug-Like Properties**. Academic Press. 2 ed. p. 497–510, 2016. DOI: [10.1016/b978-0-12-801076-1.00041-1](https://doi.org/10.1016/b978-0-12-801076-1.00041-1). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128010761000411>. Acesso em: 04 dez. 2023.

DRÄGER, U. C.; OLSEN, J. F. Distribuição de células ganglionares na retina do rato. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** v. 20, n. 3, p. 285-293, 1981. PMID: 6162818. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6162818/>. Acesso em: 25 nov. 2023.

FAHY, E. T.; CHRYSOSTOMOU, V.; CROWSTON, J. G. Mini-Review: Impaired Axonal Transport and Glaucoma. **Current Eye Research.** v. 41, n. 3, p. 273-283, mar. 2015. DOI: [10.3109/02713683.2015.1037924](https://doi.org/10.3109/02713683.2015.1037924). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26125320/>. Acesso em: 07 out. 2023.

FANARO, G.B.; MARQUES, M.R.; CALAZA K. d. C.; BRITO, R.; PESSONI, A. M.; MENDONÇA, H. R.; LEMOS, D. E. d. A.; DE BRITO ALVES, J. L.; DE SOUZA, E. L.; CAVALCANTI NETO, M. P. New Insights on Dietary Polyphenols for the Management of Oxidative Stress and Neuroinflammation in Diabetic Retinopathy. **Antioxidants**, v. 12, n. 6, p. 1237, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12061237>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3921/12/6/1237>. Acesso em: 11 nov. 2023.

FLACH, A. J. Delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) in the treatment of end-stage open-angle glaucoma. **Trans Am Ophthalmol Soc.** v. 100, p. 215-224, 2002. PMID: 12545695. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12545695/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

Ferguson, L. R.; Pearson, A. E. The clinical use of mutagenic anticancer drugs. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis.** v. 355, n. 1–2, p. 1-12, 1996. DOI: [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(96\)00019-X](https://doi.org/10.1016/0027-5107(96)00019-X). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/002751079600019X>. Acesso em: 05 dez. 2023.

GAGLIANO, C.; ORTISI, E.; PULVIRENTI, L.; et al. Ocular hypotensive effect of oral palmitoyl-ethanolamide: a clinical trial. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** v. 52, n. 9, p. 6096-6100, 3 ago. 2011. DOI: [10.1167/iovs.10-7057](https://doi.org/10.1167/iovs.10-7057). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21705689/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

GHORAI, S.; PULYA, S.; GHOSH, K.; PANDA, P.; GHOSH, B.; GAYEN, S. Structure-activity relationship of human carbonic anhydrase-II inhibitors: Detailed insight for

future development as anti-glaucoma agents. **Bioorg Chem**, v. 95, p. 103557, jan. 2020. DOI: 10.1016/j.bioorg.2019.103557. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31911296/>. Acesso em: 22 jun. 2022.

GREGORY, R. L. **Eye and brain: the psychology of seeing**. Rio de Janeiro: Ed. Zahar. 2a ed. p. 7. 1979.

HARRELL, C. R.; FELLABAUM, C.; ARSENIJEVIC, A.; MARKOVIC, B. S.; DJONOV, V.; VOLAREVIC, V. Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cells and Their Secretome in the Treatment of Glaucoma. **Stem Cells Int**. v. 2019, n. 7869130, 27 dez. 2019. DOI:10.1155/2019/7869130. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31949441/>. Acesso em: 16 nov. 2023.

HEALE, R.; RIECK BUCKLEY, C. An international perspective of advanced practice nursing regulation. **Int Nurs Rev**, v. 62, n. 3, p. 421-9, set. 2015. DOI: 10.1111/inr.12193. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26058446/>. Acesso em: 14 set. 2023.

HOMMER, N.; KALLAB, M.; SZEGEDI, S.; et al. The Effect of Orally Administered Dronabinol on Optic Nerve Head Blood Flow in Healthy Subjects-A Randomized Clinical Trial. **Clin Pharmacol Ther**. v. 108, n. 1, p. 155-161, 2020. DOI:10.1002/cpt.1797. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31977076/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

INMAN, D. M.; et al.  $\alpha$ -Lipoic acid antioxidant treatment limits glaucoma-related retinal ganglion cell death and dysfunction. **PLoS one**, v. 8, n. 6, 5 jun. 2013. DOI:10.1371/journal.pone.0065389. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23755225/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

IZZOTTI, A.; SACCA, S. C.; CARTIGLIA, C.; DE FLORA, S. Oxidative deoxyribonucleic acid damage in the eyes of glaucoma patients. **Am J Med**, v. 114, n. 8, p. 638-46. jun. 2003. DOI: 10.1016/s0002-9343(03)00114-1. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12798451/>. Acesso em: 28 jun. 2022.

JANSSEN, K. T.; MAC NAIR, C. E.; DIETZ, J. A.; SCHLAMP, C. L.; NICKELLS, R. W. Nuclear atrophy of retinal ganglion cells precedes the bax-dependent stage of apoptosis. **Invest Ophthalmol Vis Sci**. v. 54, n. 3, p. 1805-1815, 11 mar. 2013. DOI:10.1167/iovs.11-9310. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3626519/>. Acesso em: 25 nov. 2023.

KANG, J. M.; TANNA, A. P. Glaucoma. **Medical Clinics of North America**, v. 105, n. 3, p. 493-510. maio 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2021.01.004>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025712521000043>. Acesso em: 29 out. 2023.

KANDEL, E. R. **Princípios de Neurociências**. Porto Alegre: Ed. MC HILL 5a. Edição 2014.

KIEL, J. W.; KOPCZYNSKI, C. C. Effect of AR-13324 on episcleral venous pressure in Dutch belted rabbits. **J Ocul Pharmacol Ther**. v. 31, n. 3, p. 146-151, 2015. DOI:10.1089/jop.2014.0146. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25756366/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

KIM, S.; CHEN, J.; CHENG, T.; et al. Atualização PubChem 2023. **Ácidos Nucleicos Res.** v. 51, 2023. DOI:10.1093/nar/gkac956. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9825602/>. Acesso em: 22 nov. 2023.

KLEIN, R.; KLEIN, B. E.; MOSS, S. E.; DAVIS, M. D.; DEMETS, D. L. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. II. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is less than 30 years. **Arch Ophthalmol**, v. 102, n. 4, p. 520-6, abr. 1984. DOI: 10.1001/archopht.1984.01040030398010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6367724/>. Acesso em: 25 jun. 2022.

KONTOGIORGIS, C.; MANTZANIDOU, M.; HADJIPAVLOU-LITINA, D. Chalcones and their potential role in inflammation. **Mini Rev Med Chem**, v. 8, n. 12, p. 1224-42, out. 2008. DOI: 10.2174/138955708786141034. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18855737/>. Acesso em: 25 jun. 2022.

KRUPIN, T.; LIEBMANN, J. M.; GREENFIELD, D. S.; RITCH, R.; GARDINER, S. Low-Pressure Glaucoma Study Group. A randomized trial of brimonidine versus timolol in preserving visual function: results from the Low-Pressure Glaucoma Treatment Study [correção publicada aparece em *Am J Ophthalmol*. v. 151, n. 6, p. 1108, 2011]. **Am J Ophthalmol**. v. 151, n. 4, p. 671-681, 2011. DOI:10.1016/j.ajo.2010.09.026. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21257146/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

LABKOVICH, M.; JACOBS, E. B.; BHARGAVA, S.; PASQUALE, L. R.; RITCH, R. Ginkgo Biloba Extract in Ophthalmic and Systemic Disease, With a Focus on Normal-Tension Glaucoma. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*. v. 9, n. 3, p. 215-225, 2020. DOI:10.1097/APO.0000000000000279. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32282348/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

LAMOKE, F.; LABAZI, M.; MONTEMARI, A.; PARISI, G.; VARANO, M.; BARTOLI, M. Trans-Chalcone prevents VEGF expression and retinal neovascularization in the ischemic retina. **Exp Eye Res**, v. 93, n. 4, p. 350-4, out. 2011. DOI: 10.1016/j.exer.2011.02.007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21354136/>. Acesso em: 22 jun. 2022.

LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 1-11, 2001. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-314052>. Acesso em: 20 jun. 2023.

LUO, Y.; ZHAO, K.; LI, Z.; GAO, Y.; LIN, M.; LI, Y.; WANG, S.; LIU, Y.; CHEN, L. Effect of the ethyl acetate extract of *Sophora flavescens* Aiton on diabetic retinopathy based on untargeted retinal metabolomics. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci**, v.15, n. 1198, p. 123233, maio. 2022. DOI: 10.1016/j.jchromb.2022.123233. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35395445/>. Acesso em: 22 jun. 2022.

MA, W.; ZHAO, L.; WONG, W. T. Microglia in the outer retina and their relevance to pathogenesis of age-related macular degeneration. **Adv Exp Med Biol**, v. 723, p. 37-42, 2012. DOI: 10.1007/978-1-4614-0631-0\_6. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4694044/>. Acesso em: 28 jun. 2022.

MADSEN-BOUTERSE, S. A.; KOWLURU, R. A. Oxidative stress and diabetic retinopathy: Pathophysiological mechanisms and treatment perspectives. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, v. 9, n. 4, p. 315-327, dez. 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18654858/>. Acesso em: 28 jun. 2022.

MALLA, R. R.; SIRAGAM, S.; DADI, V.; SEETINI, B. Natural Chalcones and Their Derivatives Target the Tumor Microenvironment in Colon Cancer. **Crit Rev Immunol**. v. 42, n. 6, p. 27-39, 2022. DOI:10.1615/CritRevImmunol.2023047427. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37082949/>. Acesso em: 05 dez. 2023.

MANEESH KUMAR, D.; AGARWAL, N. Estresse oxidativo no glaucoma: um fardo de evidências. **Revista de Glaucoma**, v.16, n. 3, p. 334-343, maio 2007. DOI: 10.1097/01.ijg.0000243480.67532.1b. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17438430/>. Acesso em: 07 nov. 2023.

MARTÍNEZ, T.; GONZÁLEZ, M. V.; ROEHL, I.; WRIGHT, N.; PAÑEDA, C.; JIMÉNEZ, A. I. In vitro and in vivo efficacy of SYL040012, a novel siRNA compound for treatment of glaucoma. **Mol Ther**. v. 22, n. 1, p. 81-91, jan. 2014. DOI: 10.1038/mt.2013.216. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24025749/>. Acesso em: 16 nov. 2023.

MENDANHA, D. B. DE A. *et al.* Risk factors and incidence of diabetic retinopathy. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 75, n. 6, 2016. Disponível em: <https://www.rbojournal.org/en/article/risk-factors-and-incidence-of-diabetic-retinopathy/>. Acesso em: 25 jun. 2022.

MENDONÇA, H. R.; CARPI-SANTOS, R.; DA COSTA CALAZA, K.; BLANCO MARTINEZ, A. M. Neuroinflammation and oxidative stress act in concert to promote neurodegeneration in the diabetic retina and optic nerve: galectin-3 participation. **Neural Regen Res**, v. 15, n. 4, p. 625-635, abr. 2020. DOI: 10.4103/1673-5374.266910. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31638084/>. Acesso em: 28 jun. 2022.

MENDONÇA, H. R.; CARVALHO, J. N. A.; ABREU, C. A.; MARIANO DE SOUZA AGUIAR DOS SANTOS, D.; CARVALHO, J. R.; MARQUES, S. A.; DA COSTA CALAZA, K. MARTINEZ, A. M. B. Lack of Galectin-3 attenuates neuroinflammation and protects the retina and optic nerve of diabetic mice. **Brain Res**, v. 1700, p. 126-137, dez. 2018. DOI: 10.1016/j.brainres.2018.07.018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30016630/>. Acesso em: 22 jun. 2022.

MENDONÇA, H. R., *et al.* Em preparação. 2023.

MENDONÇA, H. R., VILLAS BOAS, C. O. G.; HERINGER, L. D. S.; OLIVEIRA, J. T.; MARTINEZ, A. M. B. Myelination of regenerating optic nerve axons occurs in conjunction with an increase of the oligodendrocyte precursor cell population in the adult mice. **Brain Res Bull**, v. 166, p. 150-160, jan. 2021. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2020.11.012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33232742/>. Acesso em: 22 jun. 2022.

MITOZO, S. A. *et al.* Degeneração macular relacionada à idade (DMRI) e suas complicações no idoso / Age-related macular degeneration (AMD) and its complications in the elderly. **Braz. J. Hea. Rev**, Curitiba, v. 3, n. 6, p.15978-15990, nov./dez. 2020. ISSN 2595-6825.



Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/19634>. Acesso em: 25 jun. 2022.

MOHAN, N.; CHAKRABARTI, A.; NAZM, N.; MEHTA, R.; EDWARD, D. P. Newer advances in medical management of glaucoma. **Indian J Ophthalmol.** v. 70, n. 6, p. 1920-1930. maio 2022. DOI:10.4103/ijo.IJO\_2239\_21. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9359258/>. Acesso em: 29 out. 2023.

MOTTIN, M.; CAESAR, L. K.; BRODSKY, D. et al. Chalcones from *Angelica keiskei* (ashitaba) inhibit key Zika virus replication proteins. **Bioorg Chem.** v. 120, 2022. DOI:10.1016/j.bioorg.2022.105649. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35124513/>. Acesso em: 05 dez. 2023.

MUTOLO, M. G.; ALBANESE, G.; RUSCIANO, D.; PESCOLIDO, N. Oral Administration of Forskolin, Homotaurine, Carnosine, and Folic Acid in Patients with Primary Open Angle Glaucoma: Changes in Intraocular Pressure, Pattern Electroretinogram Amplitude, and Foveal Sensitivity. **J Ocul Pharmacol Ther.** v. 32, n. 3, p. 178-183, 2016. DOI:10.1089/jop.2015.0121. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26771282/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

OCCHIUTTO, M. L.; MARANHÃO, R. C.; COSTA, V. P.; KONSTAS, A. G. Nanotechnology for Medical and Surgical Glaucoma Therapy-A Review. **Adv Ther,** v. 37, n. 1, p. 155-199, 2020. DOI:10.1007/s12325-019-01163-6. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31823205/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

OMS. 26/5 – Dia Nacional de Combate ao Glaucoma. **Biblioteca Virtual em Saúde MS.** Disponível em: <https://bvsmms.saude.gov.br/26-5-dia-nacional-de-combate-ao-glaucoma-5/>. Acesso em: 25 jun. 2022.

OSBORNE, A.; KHATIB, T. Z.; SONGRA, L.; et al. Neuroprotection of retinal ganglion cells by a novel gene therapy construct that achieves sustained enhancement of brain-derived neurotrophic factor/tropomyosin-related kinase receptor-B signaling. **Cell Death Dis.** v. 9, n. 10, p. 1007, 26 set. 2018. DOI:10.1038/s41419-018-1041-8. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30258047/>. Acesso em: 16 nov. 2023.

PASSANI, A.; POSARELLI, C.; SFRAMELI, A. T.; et al. Cannabinoids in Glaucoma Patients: The Never-Ending Story. **J Clin Med.** v. 9, n. 12, p. 3978, 8 dez. 2020. DOI:10.3390/jcm9123978. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33302608/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

PEASE, M. E.; MCKINNON, S. J.; QUIGLEY, H. A.; KERRIGAN-BAUMRIND, L. A.; ZACK, D. J. Obstructed axonal transport of BDNF and its receptor TrkB in experimental glaucoma. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.** v. 41, n. 3, p. 764–774. 2000. PMID: 10711692. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10711692/>. Acesso em: 07 nov. 2023.

PLANGE, N.; AREND, K. O.; KAUP, M.; et al. Dronabinol and retinal hemodynamics in humans. **Am J Ophthalmol.** v. 143, n. 1, p. 173-174, 2007. DOI:10.1016/j.ajo.2006.07.053. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17188063/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

PRASANNA, G.; KRISHNAMOORTHY, R.; YORIO, T. Endothelin, astrocytes and glaucoma. **Exp Eye Res.** v. 93, n. 2, p. 170-7, ago. 2011. DOI: 10.1016/j.exer.2010.09.006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20849847/>. Acesso em: 07 nov. 2023.

QUARANTA, L. et al. Glaucoma and neuroinflammation: An overview. **Survey of Ophthalmology**, v. 66, n. 5, p. 693–713, set. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33582161/>. Acesso em: 15 jun. 2022.

RAO, P. V.; DENG, P. F.; KUMAR, J.; EPSTEIN, D. L. Modulation of aqueous humor outflow facility by the Rho kinase-specific inhibitor Y-27632 [correção publicada aparece em *Invest Ophthalmol Vis Sci.* v. 42, n. 8, p. 1690, jul. 2001]. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** v. 42, n. 5, p. 1029-1037, 2001. PMID: 11274082. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11274082/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

RESENDE, L. V. **Papel do TRPA1 em mecanismos de estresse oxidativo e seu envolvimento em contextos neuropolíticos.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) Instituto Biomédico, Universidade Federal Fluminense. Niterói. 2021. Disponível em: <https://app.uff.br/riuff/handle/1/23632>. Acesso em: 28 jun. 2022.

ROCCO, M. L.; SOLIGO, M.; MANNI, L.; ALOE, L. Nerve Growth Factor: Early Studies and Recent Clinical Trials. **Curr Neuropharmacol.** v. 16, n. 10, p. 1455-1465, 2018. DOI:10.2174/1570159X16666180412092859. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29651949/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

RODRÍGUEZ-SILVA, C. N.; PROKOPCZYK, I. M.; DOS SANTOS, J. L. The Medicinal Chemistry of Chalcones as Anti-Mycobacterium tuberculosis Agents. **Mini Rev Med Chem.** V. 22, n. 16, p. 2068-2080, 2022. DOI:10.2174/1389557522666220214093606. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35156577/>. Acesso em: 05 dez. 2023.

RUZIÉ, C.; KRAYER, M.; LINDSEY, JS. Fast and robust route to hydroporphyrin-chalcones with extended red or near-infrared absorption. **Org Lett**, v. 11, n. 8, p. 1761-4, abr. 2009. DOI: 10.1021/ol900277m. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19296621/>. Acesso em: 22 jun. 2022.

SHIELDS, L.; WATSON, R. Authors' response. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 100, n. 5, p. 209-210, 2007. DOI:10.1177/014107680710000507. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/014107680710000507>. Acesso em: 14 set. 2023.

SILVA, V. B. *et al.* Tratamento da retinopatia diabética: percepções de pacientes em Rio Claro (SP) - Brasil. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 68, n. 3, p. 363–368, jun. 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abo/a/LHYXkZbhRhh5wbLrK3JHFpP/?lang=pt>. Acesso em: 25 jun. 2022.

SONG, W.J.; JEONG, M.S.; CHOI, D. M.; KIM, K. N.; WIE, M. B. Zinc Oxide Nanoparticles Induce Autophagy and Apoptosis via Oxidative Injury and Pro-Inflammatory Cytokines in Primary Astrocyte Cultures. **Nanomaterials (Basel)**, v. 9, n. 7, p. 1043, jul. 2019. DOI: 10.3390/nano9071043. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31330912/>. Acesso em: 28 jun. 2022.

SORKUN, M. C.; KHETAN, A.; ER, S. AqSolDB, um conjunto de referência com curadoria de solubilidade aquosa e descritores 2D para um conjunto diversificado de compostos. **Dados científicos**. v. 6, n. 143, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41597-019-0151-1>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41597-019-0151-1>. Acesso em: 05 dez. 2023.

SOUZA MONTEIRO DE ARAÚJO, D.; DE LOGU, F.; ADEMBRI, C. et al. TRPA1 medeia danos à retina induzidos por isquemia e reperfusão em camundongos. **Cell death & disease**, v. 11, n. 633, ago. 2020. DOI:10.1038/s41419-020-02863-6. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41419-020-02863-6>. Acesso em: 07 nov. 2023.

SPRINGER, J. W.; TANIGUCHI, M.; KRAYER, M.; RUZIÉ, C.; DIERS, J. R.; NIEDZWIEDZKI, D. M.; BOCIAN, D. F.; LINDSEY, J. S.; HOLTEN, D. Photophysical properties and electronic structure of retinylidene-chlorin-chalcones and analogues. **Photochem Photobiol Sci**, v. 13, n. 4, p. 634-50, abr. 2014. DOI: 10.1039/c3pp50421b. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2014/pp/c3pp50421b>. Acesso em: 22 jun. 2022.

SULAIMAN, R. S.; BASAVARAJAPPA, H. D.; CORSON, T. W. Natural product inhibitors of ocular angiogenesis. **Exp Eye Res**, v. 129, p. 161-71, dez. 2014. DOI: 10.1016/j.exer.2014.10.002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25304218/>. Acesso em: 22 jun. 2022.

TANIHARA, H.; INOUE, T.; YAMAMOTO, T.; et al. Additive Intraocular Pressure-Lowering Effects of the Rho Kinase Inhibitor Ripasudil (K-115) Combined With Timolol or Latanoprost: A Report of 2 Randomized Clinical Trials. **JAMA Ophthalmol**, v. 33, n. 7, p. 755-761, 2015. DOI:10.1001/jamaophthalmol.2015.0525. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25880207/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

TEZEL, G. L. N.; YANG, X.; CAI, J. Proteomic Identification of Oxidatively Modified Retinal Proteins in a Chronic Pressure-Induced Rat Model of Glaucoma. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 46, n. 9, p. 3177-3187, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16123417/>. Acesso em: 28 jun. 2022.

THAM, Y. C.; LI, X.; WONG, T.Y.; QUIGLEY, H. A.; AUNG, T.; CHENG, C. Y. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. **Ophthalmology**, v. 121, n. 11, p. 2081-90, nov. 2014. DOI: 10.1016/j.ophtha.2014.05.013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24974815/>. Acesso em: 25 maio 2023.

THIEME, H.; NUSKOVSKI, M.; NASS, J. U.; PLEYER, U.; STRAUSS, O. Wiederholt M. Mediation of calcium-independent contraction in trabecular meshwork through protein kinase C and rho-A. **Invest Ophthalmol Vis Sci**. v. 41, n. 13, p. 4240-1246, 2000. PMID: 11095621. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11095621/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

THOMAS, S.; HODGE, W.; MALVANKAR-MEHTA, M. The Cost-Effectiveness Analysis of Teleglaucoma Screening Device. **PLoS One**. v. 10, n. 9, 18 set. 2015. DOI:10.1371/journal.pone.0137913. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26382956/>. Acesso em: 22 nov. 2023.

TIAN, S.; WANG, J.; LI, Y.; LI, D.; XU, L.; HOU, T. The application of in silico drug-likeness predictions in pharmaceutical research. **Adv Drug Deliv Rev.** v. 86, p. 2-10, 2015. DOI:10.1016/j.addr.2015.01.009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25666163/>. Acesso em: 04 dez. 2023.

TOMIDA, I.; AZUARA-BLANCO, A.; HOUSE, H.; FLINT, M.; PERTWEE, R. G.; ROBSON, P. J. Effect of sublingual application of cannabinoids on intraocular pressure: a pilot study. **J Glaucoma.** v. 15, n. 5, p. 349-353, 2006. DOI:10.1097/01.ijg.0000212260.04488.60 Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16988594/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

VENTURA, T. L.; CALIXTO, S. D.; DE AZEVEDO ABRAHIM-VIEIRA, B.; DE SOUZA, A. M.; MELLO, M. V.; RODRIGUES, C. R.; SOTER DE MARIZ E MIRANDA, L.; ALVES DE SOUZA, R. O.; LEAL, I. C.; LASUNSKAIA, E. B.; MUZITANO, M. F. Antimycobacterial and anti-inflammatory activities of substituted chalcones focusing on an anti-tuberculosis dual treatment approach. **Molecules,** v. 20, n. 5, p. 8072-93, maio. 2015. DOI: 10.3390/molecules20058072. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25951004/>. Acesso em: 22 jun. 2022.

WEI, X.; CHO, K.S.; THEE, E. F.; JAGER, M. J.; CHEN, D. F. Neuroinflammation and microglia in glaucoma: time for a paradigm shift. **J Neurosci Res,** v. 97, n. 1, p. 70-76, jan. 2019. DOI: 10.1002/jnr.24256. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29775216/>. Acesso em: 28 jun. 2022.

WANG, L.; CHEN, H. C.; YANG, X.; TAO, J. J.; LIANG, G.; WU, J. Z.; WU, W. C.; WANG, Y.; SONG, Z. M.; ZHANG, X. The novel chalcone analog L2H17 protects retinal ganglion cells from oxidative stress-induced apoptosis. **Neural Regen Res,** v. 13, n. 9, p. 1665-1672, set. 2018. DOI: 10.4103/1673-5374.237140. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6126127/>. Acesso em: 22 jun. 2022.

WANG, R. F.; WILLIAMSON, J. E.; KOPCZYNSKI, C.; SERLE, J. B. Effect of 0.04% AR-13324, a ROCK, and norepinephrine transporter inhibitor, on aqueous humor dynamics in normotensive monkey eyes. **J Glaucoma.** v. 24, n. 1, p. 51-54, 2015. DOI:10.1097/IJG.0b013e3182952213. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25535688/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

WEINREB, R. N.; AUNG, T.; MEDEIROS, F. A. The pathophysiology and treatment of glaucoma: a review. **JAMA.** v. 311, n. 18, p. 1901-1977, maio 2014. DOI:10.1001/jama.2014.3192. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4523637/>. Acesso em: 29 out. 2023.

WEINREB, R. N.; LEUNG, C. K.; CROWSTON, J. G.; MEDEIROS, F. A.; FRIEDMAN, D. S.; WIGGS, J. L.; MARTIN, K. R. Primary open-angle glaucoma. **Nat Rev Dis Primers.** v. 2, n. 16067, set. 2016. DOI: 10.1038/nrdp.2016.67. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrdp201667>. Acesso em: 08 nov. 2023.

WEINREB, R. N.; LIEBMANN, J. M.; CIOFFI, G. A.; et al. Oral Memantine for the Treatment of Glaucoma: Design and Results of 2 Randomized, Placebo-Controlled, Phase 3 Studies. **Ophthalmology.** v. 125, n. 12, p. 1874-1885, 2018.

DOI:10.1016/j.optha.2018.06.017. Disponível em:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30082073/>. Acesso em: 17 nov. 2023.

WU, J.; BELL, O. H.; COPLAND, D. A. et al. Gene Therapy for Glaucoma by Ciliary Body Aquaporin 1 Disruption Using CRISPR-Cas9. **Mol Ther.** v. 28, n. 3, p. 820-829, 2020.  
DOI:10.1016/j.ymthe.2019.12.012. Disponível em:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31981492/>. Acesso em: 16 nov. 2023.

## ANEXO A - DOCUMENTO DE AUTORIZAÇÃO DA PESQUISA



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO – UFRJ  
Centro de Ciências da Saúde - CCS

Rio de Janeiro, 16 de agosto de 2023.

Prezado Prof. Henrique Rocha Mendonça,

A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) em Experimentação Científica do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio de Janeiro registrada no Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) sob o número de processo 01200.001568/2013-87 certifica que o projeto intitulado: "**Efeito das Chalconas 4 e 5 na neuroproteção da retina submetida a estresse oxidativo.**" protocolo nº 067/22, sob sua responsabilidade que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais para fins de pesquisa científica (ou ensino) encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), foi aprovado por esta comissão de ética, em reunião do dia 09/08/2023.

<b>Finalidade</b>	( ) Ensino (X) Pesquisa Científica
<b>Vigência do Projeto</b>	Até 16/08/2026
<b>Espécie/linhagem</b>	<i>Mus Musculus - Swiss</i>
<b>Nº de animais</b>	50 animais / 25 de cada sexo
<b>Peso/idade</b>	30g / 2 meses
<b>Sexo</b>	Machos e Fêmeas
<b>Origem</b>	LAT - Laboratório de animais transgênicos Avenida Carlos Chagas Filho, 791 – Parque Tecnológico / UFRJ

Atenciosamente;



Prof. Marcel Frajblat  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais - CCS