

Daniella do Carmo Buonfiglio

*Estudo da síntese de melatonina  
em retinas de ratos Wistar diabéticos*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

São Paulo  
2010

Daniella do Carmo Buonfiglio

*Estudo da síntese de melatonina  
em retinas de ratos Wistar diabéticos*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Fisiologia Humana

Orientador: Prof. Dr. José Cipolla Neto

São Paulo  
2010

DADOS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)  
Serviço de Biblioteca e Informação Biomédica do  
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

reprodução não autorizada pelo autor

Buonfiglio, Daniella do Carmo.

Estudo da síntese de melatonina em retinas de ratos Wistar diabéticos / Daniella Buonfiglio. -- São Paulo, 2010.

Orientador: José Cipolla Neto.

Dissertação (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Departamento de Fisiologia e Biofísica. Área de concentração: Fisiologia Humana. Linha de pesquisa: Síntese de melatonina na retina e diabetes.

Versão do título para o inglês: Impairment of retinal melatonin synthesis in diabetic Wistar rat.

Descritores: 1. Melatonina 2. Retina 3. Diabetes 4. AANAT 5. Estreptozotocina 6. Insulina I. Colquhoun, Alison II. Universidade de São Paulo. Instituto de ciências Biomédicas. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Humana III. Título.

ICB/SBIB0211/2010

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

---

Candidato(a): Daniella do Carmo Buonfiglio.

Título da Tese: Estudo da síntese de melatonina em retinas de ratos Wistar diabéticos.

Orientador(a): José Cipolla Neto.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada a ...../...../....., considerou

**Aprovado(a)**

**Reprovado(a)**

Examinador(a): Assinatura: .....  
Nome: .....  
Instituição: .....

Examinador(a): Assinatura: .....  
Nome: .....  
Instituição: .....

Examinador(a): Assinatura: .....  
Nome: .....  
Instituição: .....

Examinador(a): Assinatura: .....  
Nome: .....  
Instituição: .....

Presidente: Assinatura: .....  
Nome: .....  
Instituição: .....




UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS


Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"  
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 – CEP. 06508-000 São Paulo, SP – Brasil  
Telefone : (55) (011) 3091.7733 – telefax : (55) (011) 3091.7438  
e-mail: cep@icb.usp.br

## CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo registrado sob nº 79 nas fls. 09 do livro 2 para uso de animais em experimentação, sob a responsabilidade da Prof. Dr. José Cipolla Neto, Coordenador da Linha de Pesquisa "***O papel da melatonina no controle do metabolismo energético: interações hormonais, ações centrais e periféricas: pineal, obesidade, diabetes e envelhecimento***" do qual participou(aram) o(s) aluno(s): **Sabrina Heloísa José dos Santos, Rodrigo Peliciari, Fernanda Gaspar do Amaral, Ana Lúcia Skorupa, Lillian C. Souza, Maria Isabel Cardoso Alonso-Vale, Cristina das Neves Borges Silva, Julie Takada, Sidney Barnabé Peres, Paula Mukai, Ronaldo Meira de Mello, Cecília Picinato, Thaís Martins de Lima.** Pesquisadores: **Fabio Bessa Lima, Silvana A Bordin da Silva, Carla Roberta O Carvalho, Ângela Rafael Carpinelli, Rui Curi, Antonio Carlos Cassola e Solange Castro Afeche** está de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela **COMISSÃO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEA)** em **16.12.2004.**

São Paulo, 16 de dezembro de 2004.

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Marília C. Leite Seelaender  
Coordenadora da CEEA

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Francisco Carlos Pereira  
Secretário da CEEA

*Dedico essa tese a todas as pessoas  
que me acompanharam de perto  
nessa jornada.*

*Em especial ao meu marido Cano  
e meus pais, Vicente e Jurema.*

## AGRADECIMENTOS

---

Chegou o momento de expressar sinceros agradecimentos a meus adorados familiares e amigos, tanto aos “velhos” e queridos quanto aos “novos” que se revelaram ao longo desse tempo.

Se o desafio era grande as motivações eram enormes, somadas às espontâneas generosidades que fizeram possível a transformação de instantâneos momentos de angústia e sofrimento em um caminho menos árduo e mais iluminado! Talvez essa tese seja o resultado dessa rede de solidariedade e de muito, muito afeto. Dedico algumas palavras àqueles que dela fazem parte direta ou indiretamente ou, ainda, pelo fato de simplesmente existirem.

Agradeço a Deus por colocar pessoas maravilhosas e queridas na minha vida!

Agradeço aos meus pais, Vicente e Jurema, que contribuíram diretamente na minha formação, educando-me e ensinando valores morais e éticos.

Muito obrigada ao ‘Santo Cano’, já estou convencida de que ele seja um santo mesmo só pela paciência e por todo amor e cumplicidade que me é dado!

Agradeço a minhas irmãs Maria Amélia e Giu, que me ensinaram desde pequena o que é viver em “sociedade”!

A baby simplesmente por existir, foi mais um presente em nossas vidas!

A Dona Angela, minha sogra querida, por todo apoio que nos foi dado.

Agradeço ao chefe, Prof. Cipolla, por me acolher em seu laboratório e acreditar em mim, além de todo conhecimento doado esses anos todos.

Um agradecimento especial para Julieta, uma amiga, um anjo. Jú, amigos são para sempre, mesmo que o sempre não exista. Obrigada por tudo!

Ao Rô por sua amizade, “paciência” e pelas discussões quase sempre pacíficas!

Ao Prévide, por ter se tornado um amigo querido tão rápido!

Agradeço ao Peres e a Ana, por tornarem as tardes sempre divertidas.

A Rosana Fátima uma pessoinha muito especial que adorei conhecer, obrigada por todas as risadas!

Agradeço a Fê por todos os experimentos e ensaios divididos, uma dupla com eficiência de 100%.

Agradeço a Jéssica, digo, Morango que confiou em mim e teve coragem de me chamar para sua banca do TCC.

Agradeço aos demais membros do laboratório o Marco, a Lia, o Ronaldo, a Carol e não poderia esquecer a Maria Alice! Obrigada a todos!

Agradeço a Dr<sup>a</sup>. Solange por permitir que usássemos seu laboratório para realização dos ensaios de atividade enzimática!

Não posso deixar de agradecer aos mais antigos que me receberam de braços abertos, a Sabrina e Simoninha, saudades de vocês!

Muito obrigada aos meus “velhos” amigos Japinha e Lú! Vocês sabem que os amigos são a família que escolhemos né? E vocês já fazem parte da minha!

Ao CNPq que me concedeu uma bolsa durante a realização deste doutorado.

Agradeço ao Dr. Paul Pevet e a Dr<sup>a</sup>. Mireille Masson-Pévet a oportunidade dada de trabalhar no departamento de Neurobiologia dos ritmos em Estrasburgo, França.

Agradeço, em especial, a Dr<sup>a</sup>. Marie Paule Felder-Schmittbuhl e o Dr. David Hicks que me receberam tão afetosamente no laboratório e me orientarem durante o ano que passei em Estrasburgo. Ano que foi divisor de águas em minha vida científica, pois foi por causa deles que comecei a trabalhar com retina, Merci Beaucoup!

Há muito mais a quem agradecer... A todos aqueles que, embora não nomeados, me brindaram com seus inestimáveis apoios, o meu reconhecido e carinhoso muito obrigado!!!



*La théorie est l'hypothèse vérifiée après qu'elle a été soumise au contrôle du raisonnement et de la critique. Une théorie, pour rester bonne, doit toujours se modifier avec le progrès de la science et demeurer constamment soumise à la vérification et la critique des faits nouveaux qui apparaissent. Si l'on considérait une théorie comme parfaite, et si on cessait de la vérifier par l'expérience scientifique, elle deviendrait une doctrine*

*Claude Bernard (1813 - 1878)*

## RESUMO

---

Carmo-Buonfiglio D. Estudo da síntese de melatonina em retinas de ratos Wistar diabéticos [tese (Doutorado em Fisiologia e Biofísica)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2010.

A retina está envolvida no sistema sincronizador endógeno assegurando o ajuste de suas funções às mudanças diárias na intensidade de luz. Como resultado, muitos fenômenos foram descritos sendo rítmicos. A síntese de melatonina na retina ocorre de maneira circadiana na camada fotorreceptora, e age localmente como um neuromodulador promovendo a adaptação fisiológica da retina ao escoto-período. Sabendo-se que o estresse oxidativo, decorrente da hiperglicemia, é um dos principais fatores que contribui com o desenvolvimento da retinopatia diabética, que a melatonina é conhecida por ser um dos maiores antioxidantes naturais e que há ainda uma escassez de dados na literatura sobre a síntese do referido indol mediante o quadro de diabetes, o objetivo do presente trabalho foi avaliar na retina de animais diabéticos o conteúdo de melatonina e as enzimas envolvidas em sua via de síntese ao longo das 24 horas. Para isso, ratos Wistar mantidos em biotério com ciclo claro-escuro de 12h/12h tiveram o quadro diabético induzido por STZ (60mg/kg, i.p.). Os animais diabéticos tratados com insulina receberam subcutaneamente 2U de insulina de liberação lenta no começo do dia e no começo da noite receberam 4U, sendo 2U de insulina regular mais 2U de insulina de liberação lenta, totalizando 6U por dia durante os três dias. Os animais foram sacrificados 3 dias pós-indução a cada 3 horas ao longo das 24 horas. Os resultados encontrados mostraram uma significativa redução no conteúdo de melatonina nas retinas dos animais diabéticos devido à diminuição de atividade da enzima AANAT e o tratamento com insulina foi eficaz em restabelecer ambos os parâmetros. Presume-se que a diminuição da atividade da AANAT seja um reflexo da redução no conteúdo de AMPc, já que o AMPc regula a estabilidade desta enzima por ativar PKA e esta, por sua vez, fosforila AANAT protegendo-a da degradação proteossomal, refletindo dessa forma na síntese de melatonina. As outras enzimas (TPH e HIOMT) envolvidas na síntese de melatonina não foram afetadas em 3 dias do início do quadro diabético, assim como a expressão gênica do transportador de glicose e do receptor de insulina. Mediante a esses dados, pode-se supor que as retinas dos animais diabéticos estão mais vulneráveis aos danos decorrentes do quadro diabético, já que a proteção antioxidante da melatonina está diminuída. Na patologia como o diabetes Mellitus o aumento do estresse oxidativo, devido ao aumento na geração de espécies reativas de oxigênio, combinado com a diminuição da proteção antioxidante da melatonina, pode, possivelmente, ter um papel no desenvolvimento da retinopatia diabética.

Palavras-chave: Melatonina. Retina. Diabetes. AANAT. Estreptozotocina. Insulina.

## Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

