

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 09/04/2023.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE CAMU-CAMU
(*MYRCIARIA DUBIA*) NA DIETA DE PACUS (*PIARACTUS
MESOPOTAMICUS*) ALOXANO-DIABÉTICOS SOBRE A
RETINA**

**Karina Eliana Herencia Bueno
Médica Veterinária**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE CAMU-CAMU
(*MYRCIARIA DUBIA*) NA DIETA DE PACUS (*PIARACTUS
MESOPOTAMICUS*) ALOXANO-DIABÉTICOS SOBRE A
RETINA**

Karina Eliana Herencia Bueno

Orientador: Prof. Dr. Fabricio Singaretti de Oliveira

Coorientadores: Profa. Dra. Julieta Rodini Engrácia de Moraes

Prof. Dr. José Luiz Laus

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Câmpus de Jaboticabal-SP, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Cirurgia Veterinária.

2021

FICHA CATALOGRÁFICA

B928e Bueno, Karina Eliana Herencia
Efeito da suplementação de camu-camu (*Myrciaria dubia*) na dieta de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) aloxano-diabéticos sobre a retina / Karina Eliana Herencia Bueno. -- Jaboticabal, 2021
108 f. : tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Fabricio Singaretti de Oliveira
Coorientadora: Julieta Rodini Engrácia de Moraes

1. Antioxidantes. 2. Diabetes. 3. Retina. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE CAMU-CAMU (*Myrciaria dubia*) NA DIETA DE PACUS (*Piaractus Mesopotamicus*) ALOXANO-DIABÉTICOS SOBRE A RETINA

AUTORA: KARINA ELIANA HERENCIA BUENO

ORIENTADOR: FABRICIO SINGARETTI DE OLIVEIRA

COORDENADOR: JOSÉ LUIZ LAUS

COORDENADORA: JULIETA RODINI ENGRACIA DE MORAES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIRURGIA VETERINÁRIA, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. FABRICIO SINGARETTI DE OLIVEIRA (Participação Virtual)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV - UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. ALEXANDRE PINTO RIBEIRO (Participação Virtual) P/
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária-FAVET/UFMT / Cuiabá/MT

Profa. Dra. PAOLA CASTRO MORAES (Participação Virtual) P/
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / UNESP / FCAV - Jaboticabal

Prof. Dr. ANDRIGO BARBOZA DE NARDI (Participação Virtual) P/
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Dra. CAMILA BALTAZAR (Participação Virtual) P/
Pupila Oftalmologia Veterinária - Pupilavet / Salvador/BA

Jaboticabal, 09 de abril de 2021

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

KARINA ELIANA HERENCIA BUENO - nascida em 12 de abril de 1984, no distrito de Jesus María, Lima, Peru, e filha de Consuelo Bueno de Herencia e Fernando Miguel Herencia Elliot. Cursou Medicina Veterinária entre 2003 e 2010, na Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH). Realizou, em 2014, o curso de Oftalmologia de Animais de Companhia na mesma Universidade onde se graduou. Em 2015 ingressou no Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária da FCAV/Unesp, Câmpus de Jaboticabal-SP, com bolsa do Programa de Estudantes-Convênio de Pós-Graduação (PEC-PG) do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Brasil (CNPq). Tornou-se mestra em 2017 em Cirurgia Veterinária sob a orientação do prof. José Luiz Laus. Atualmente, é aluna regular do curso de Doutorado e atuante do Serviço de Oftalmologia Veterinária do Hospital Universitário da FCAV - UNESP - Câmpus de Jaboticabal-SP, sob orientação do Prof. Dr. Fabrício Singaretti de Oliveira e coorientação do prof. Dr. José Luiz Laus e da profa. Dra. Julieta Rodini Engrácia de Moraes. Possui experiência em cirurgia geral e oftalmologia de cães e gatos.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Consuelo Bueno de Herencia
e Fernando Miguel Herencia Elliot,

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu senhor Jesus, por todos os privilégios, graças e experiências durante esses anos no Brasil. A minha mãe Maria, Nossa Senhora Aparecida, pela companhia, sua interseção e as graças concedidas.

A minha mãe Consuelo Bueno e meu pai Miguel Herencia pela vida que me deram e nessa etapa ainda de longe estão presentes.

A minha tia Elena Bueno, pelo carinho e preocupação durante todo esse tempo.

A irmã Elizabeth Herencia, pelo apoio e companhia nesse tempo todo.

A minha prima Marisol Bueno, quem tem sido uma grande inspiração e muitas vezes o maior grande apoio em tantas situações. Ter tido ela nesse tempo, a sua compreensão e o carinho que sempre me deu, assim como seus conselhos, facilitaram esta etapa da minha vida.

A minha prima Patricia Bueno porque sempre foi um apoio e companhia.

Ao Rafael Romaneli, por ter sido um grande amigo, vizinho, colega e parceiro, agradeço todos seus ensinamentos durante a pesquisa.

Ao Kifajat Ulah Khan, pela parceria, cuidados, apoio e seus ensinamentos durante a pesquisa.

A Nicoli Mello, por me ajudar quando precisei, pois nossa amizade é incondicional. pela enorme ajuda que sempre tive a toda hora em qualquer dia, a paciência e sobretudo por sempre me transmitir o amor de Deus.

Ao Gabriel Carra, uma pessoa incrível por dentro e fora do trabalho. Não tenho palavras que resumam tudo o que você fez por mim, desde cada abraço que me deu, seus sorrisos que mudavam os ânimos. Obrigada por ter me auxiliado o tempo todo, sem a sua parceria não teria logrado aos resultados obtidos durante a minha jornada no doutorado.

A Andreia Constantino, por ser tão maravilhosa, amiga, mãe, irmã. Sempre contagiando a todos com essa alegria e energia boa, que é impossível não amar.

A Ediana Ramos, minha amiga e vizinha que chegou para me motivar e assegurar meus dias em Jaboticabal. Com esse coração gigante, trazendo alegria e paz que irradia, sem dúvida você fez diferença em mim.

Ao Marco Palacios, pela amizade, brincadeiras, apoio e carinho em muitos momentos da minha estadia no Brasil.

Ao Manuel Neto, sou grata de ter o conhecido e ter tido essa convivência durante a pesquisa, pela qualidade de pessoa e profissional, pela amizade e sua ajuda incondicional.

Ao professor Fabrício Singaretti, pela orientação, paciência e o enorme apoio durante todo esse tempo.

Ao meu querido professor José Luiz Laus, pela coorientação e o carinho que sempre teve.

Ao professor Flavio Ruas, por todo seu apoio, ajuda incondicional, pelos conhecimentos oferecidos, sua paciência que me deixaram marcada para toda a minha vida.

A professora Julieta Engrácia, pela coorientação, ajuda na pesquisa, pelo seu apoio, confiança e carinho.

Ao professor João Kochenborger, pelo enorme apoio e toda a confiança que me deu para o desenvolvimento do presente trabalho.

Ao Alex Cueva, pela ajuda, paciência, ideias, ensinamentos e a sua orientação que foram fundamentais para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao Dr. Ivan Padua, pela motivação, entusiasmo e amizade durante todo o tempo, a sua parceria, colaboração e experiência que foram importantes na pesquisa.

A Ms. Rachel Neto pelos ensinamentos e toda a sua colaboração na pesquisa.

A Dra. Mayara Rosolem pela amizade, paciência, parceria, ensinamentos e colaboração na pesquisa.

A Daniela Moura, que me apoiou nos momentos difíceis. Ter tido a sua ajuda e parceria aliviou muito o trabalhão que íamos ter na frente.

Ao Alexandre Sobrinho, pela qualidade de profissional, ajuda, ideias, compromisso e a parceria durante o experimento.

A Marcella Rosa, Bya e Francimery pelos conselhos, paciência e por serem muito parceiras.

Aos funcionários da UNESP, Antonio, Mabel, Silvinha, Chica, e Edson, sou grata da segurança que me deram em cada etapa do experimento.

Ao Sr. Valdecir pela ajuda e sua disposição para os cuidados dos meus pacientes.

Ao Paulo Henrique, Júlio, Gabriela, Leticia, Paulo, Isabela, pelos ensinamentos e parcerias que sempre me forneceram.

Ao Maicon, ao Jorge, a Jianine, Franciele pela amizade e companhia nesses dias em Jaboticabal.

Ao Fernando, Bruno, Livia, Thainara, Gabriela, Carlos, Kietlin, Felipe, Catarina, Ana, Caroline, Jayne, Alejandra, Wendy, Matheus e José pela ajuda que recebi sempre durante a pesquisa, pois vocês foram parte essencial durante meu aprendizado nessa instituição.

Aos meus peixes, que foram utilizados para os diversos testes desde o desenvolvimento do piloto até o experimento, muitos deles foram submetidos a eutanásia e outros que conseguiram ser liberados ao final deste. Não tem sido fácil trabalhar com vocês, e sou grata pela enorme experiência que me permitiram ter, agora que voltaram ao Céu, já estão em casa.

Ao CNPq, CAPES e FAPESP pela bolsa e financiamento da pesquisa. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)	iii
RESUMO	iv
Palavras-chave.....	iv
ABSTRACT -	v
Keywords	v
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	xiii
CAPÍTULO 1 - Considerações Gerais.....	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1. Diabetes mellitus (DM)	2
2.2. Modelos para estudos sobre DM	2
2.3. A retina	5
2.4. Neuroregeneração e estresse oxidativo no DM.....	6
2.5. Diabetes mellitus, retinopatia e neuroproteção.....	7
2.6. Camu-camu (<i>Myrciaria dubia</i>) e diabetes.....	8
3. REFERÊNCIAS.....	10
CAPÍTULO 2 - Caracterização mediante uso da retinografia, avaliação macroscópica e histomorfométrica da retina do Pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) ..	20
1. INTRODUÇÃO	22
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3. RESULTADOS.....	24
3.1. Retinografia	24
3.2. Observação macroscópica	26
3.3 Aspectos histológicos	30

4. DISCUSSÃO	34
5. CONCLUSÃO	36
6. REFERÊNCIAS.....	37

CAPÍTULO 3 - Efeitos da suplementação do camu-camu (*Myrciaria dubia*) sobre a retina de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) aloxano diabéticos.....39

1. INTRODUÇÃO	41
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	42
2.1. Animais.....	42
2.2. Camu-camu (<i>Myrciaria dubia</i>)	42
2.3. Preparação da dieta	43
2.4. Avaliação das condições basais relativas à glicemia	43
2.5. Indução do diabetes	43
2.6. Estudo piloto	43
2.7. Delineamento experimental.....	44
2.8. Protocolos de avaliação oftálmica.....	44
2.8.1 Padronização da técnica de eletrorretinografia	45
2.8.2 Retinografia.....	45
2.9. Eutanásia e colheita dos olhos.....	46
2.10. Histomorfometria.....	46
2.11. Histopatologia e IQ.....	47
2.12. Avaliação do índice apoptótico (Teste TUNEL).....	47
2.13. Estatística.....	48
3. RESULTADOS.....	48
3.1. Eletrorretinografia (ERG)	48
3.2. Retinografia	52
3.3. Histopatologia e IQ	54
4. DISCUSSÃO	72
5. CONCLUSÕES.....	77
6. REFERÊNCIAS.....	78

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal

**CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS****DECLARAÇÃO**

Declaramos que o trabalho de pesquisa intitulado "Efeito neuroprotetor, sobre a retina, da suplementação de camu-camu (*Myrciaria dúbia*) na dieta de Pacus (*Piaractus mesopotamicus*) aloxana-diabéticos", sob orientação do Prof. Dr. José Luiz Laus e Certificado CEUA protocolo nº 18718/17, teve mudança de orientação para Prof. Dr. Fabrício Singaretti de Oliveira, aprovado em reunião ordinária de 04 de julho de 2019.

Jaboticabal, 04 de julho de 2019.

Prof.ª Dr.ª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE CAMU-CAMU (*MYRCIARIA DUBIA*) NA DIETA DE PACUS (*PIARACTUS MESOPOTAMICUS*) ALOXANO-DIABÉTICOS SOBRE A RETINA

RESUMO - As retinopatias diabéticas despontam como causa importante de cegueira em humanos, notadamente em países não desenvolvidos e são caracterizadas pela presença de lesões microvasculares e degeneração. Os antioxidantes representam alternativa terapêutica a essa condição, por diminuir o risco de perda da visão e o desenvolvimento de retinopatias. O camu-camu (*Myrciaria dubia*) é um fruto da selva Amazônica, pertencente à família da Myrtaceae e contém grandes concentrações de vitamina C. O escopo deste trabalho foi o de estudar os efeitos de uma dieta enriquecida pelo camu-camu na retina de peixes aloxano-diabético. O estudo foi composto por peixes pacus (*Piaractus mesopotamicus*) de 213,87gramas, machos e fêmeas, distribuídos em 6 grupos (n=40):Três grupos não diabéticos (ND0, ND500 e ND1000) e três grupos diabéticos (D0, D500 e D1000). Foram administradas concentrações de camu-camu de 500 e de 1000mg nos dois grupos respectivamente. Avaliou-se seu efeito sobre a retina possíveis alterações e nível de RDNP (retinopatia diabética não proliferativa) mediante eletrorretinografia e retinografia, morfologia, histopatologia, imuno-histoquímica e apoptoses. Todos os pacientes induzidos à diabetes apresentaram lesões severas de RDNP. Aumento de escore a RDNP foi observado entre o grupo relativamente ao grupo ND com escore (0). Foram observadas diferenças significativas do escore de risco nos grupos D1000 versus os grupos controles com escore 2.83 e 0 respectivamente. Apresentando uma tendência menor as severidades de RDNP nos pacientes de D500. Relativamente à eletrorretinografia, o tempo implícito da onda b para os bastonetes foi significativamente mais baixo no grupo D500 quando comparados os grupos ND0 e ND500. A morfometria revelou que o grupo D0 teve diminuição significativa da espessura da retina total e posterior assim como da camada dos fotorreceptores ao ser comparado com o grupo ND0. O grupo D0 diminuiu significativamente a camada do epitélio pigmentário e dos fotorreceptores ao ser comparado com o ND500. Ademais, o grupo D1000 apresentou maior espessura do que os grupos D0 e o D500. Uma tendencia de maior marcação no escore final para o índice apoptótico, caspase-3 e caspase-9 no grupo D0 e menor marcação em D500 e D1000. Os achados sugerem que o camu-camu mostrou ação neuroprotetora beneficiando no tecido retinal do pacu.

Palavras-chave: antioxidante, diabetes, neuroprotetor, pacu, retina

EFFECTS OF CAMU-CAMU (*MYRCIARIA DUBIA*) SUPPLEMENTATION ON THE DIET OF PACUS (*PIARACTUS MESOPOTAMICUS*) ALOXAN-DIABETICS ON THE RETINA

ABSTRACT - Diabetic retinopathies are a major cause of blindness in humans, especially in undeveloped countries, and are characterized by the presence of microvascular lesions and degeneration. Antioxidants represent a therapeutic alternative to this condition by reducing the risk of vision loss and development of retinopathies. Camu-camu (*Myrciaria dubia*) is a fruit of the Amazon jungle, which belongs to the Myrtaceae family and contains high concentrations of vitamin C. The scope of this work was to study the effects of a diet enriched by camu-camu on the retina of aloxane-diabetic fish. The study was composed of male and female pacu fish (*Piaractus mesopotamicus*) of 213.87grams, distributed in 6 groups (n=40): Three non-diabetic groups (ND0, ND500 and ND1000) and three diabetic groups (D0, D500 and D1000). 500 and 1000mg concentrations of Camu-camu were administered to the two groups, respectively. Their effect on the retina regarding possible alterations and level of RDNP (non-proliferative diabetic retinopathy) was evaluated by means of electro-retinography and retinography, morphology, histopathology, immunohistochemistry and apoptosis. All diabetes-induced patients had severe lesions of RDNP. Increased RDNP score was observed in all D groups compared to ND group with score (0). Significant differences in risk score were observed in groups D1000 versus control groups with score 2.83 and 0, respectively. RDNP severity presented a lower tendency in D500 patients. Regarding electro-retinography, the implicit b wave time for rods was significantly lower in group D500 when compared to groups ND0 and ND500. Morphometry revealed that group D0 had a significant decrease in the thickness of total and posterior retina as well as the photoreceptor layer when compared to group ND0. Group D0 significantly decreased the pigment epithelium and photoreceptor layer when compared to the ND500. In addition, Group D1000 was thicker than Groups D0 and D500. There was a tendency of higher marking for apoptotic index, caspase-3 and caspase-9 in group D0 and lower marking in D500 and D1000. The findings suggest that the camu-camu showed neuroprotective action benefiting the retinal tissue of pacu.

Keywords: antioxidant, diabetes, neuroprotective, pacu, retina

LISTA DE ABREVIATURAS

AGES	Glicosilação de produtos avançados
ANOVA	Análise de Variância
ARVO	Animals in Ophthalmic Vision and Research
CNI	Camada nuclear interna
CNE	Camada nuclear externa
CPI	Camada plexiforme interna
DM	Diabetes mellitus
ER	Endoplasmic reticulum
ERG	Eletrorretinografia
FGEV	Fator de crescimento endotelial vascular
GLP- 1	Peptídeo tipo glucagon
HE	Técnica de coloração em hematoxilina e eosina
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
IDF	“International Diabetes Federation”
IGF-1	Fator de crescimento insulínico tipo 1
IRMA	Anormalidades microvasculares intraretinais
mmHg	Milímetros de mercúrio
OD	Oxigênio dissolvido
PACAP	Peptídeo ativador da adenilato ciclase na pituitária
PEDF	Fator derivado do epitélio pigmentário
PIO	Pressão intraocular
RD	Retinopatia diabética
RDNP	Retinopatia diabética não proliferativa
RDP	Retinopatia diabética proliferativa
RAS	Sistema renina-angiotensina
ROS	Espécies reativas de oxigênio
TRO	Diâmetro antero posterior do olho
Uv	Microvolts
WHO	World Health Organization

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 - Considerações Gerais	1
CAPÍTULO 2 - Caracterização mediante uso da retinografia, avaliação macroscópica e histomorfométrica da retina do Pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) ..	20
Figura 1. Imagem de pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) demonstrando contenção manual para a realização do exame de retinografia. Em A: observe-se o posicionamento horizontal para o olho estar totalmente iluminado e favorecer a imagem da retina na sua total extensão. Em B: note-se o posicionamento do peixe junto à lente auxiliar para o registro das imagens. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2019.	25
Figura 2. Imagem representativa do fundo do olho e nervo óptico do pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>). A: Observa-se a vasculatura dicotomizada da região de retina central (setas finas), o vaso maior calibre (seta maior) e o processo falciforme (seta branca). Em B: apresenta-se em detalhe uma parte da retina central com seu processo falciforme (seta). Laboratório de Oftalmologia Hospital Veterinário Governador Laudo Natel, FCAV-Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2019.....	25
Figura 3. Imagem macroscópica representativa do olho do pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>). Em A: Vista posterior, note-se o posicionamento centralizado do nervo óptico (NO). Em B: retina completa após retirar o botão corneal, observa-se o detalhe da região tapetal (estrela preta), não tapetal (estrela branca) e processo falciforme (linha preta). Laboratório de Ictiopatologia, Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2019.	26
Figura 4. Imagem comparativa do fundo do olho do pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) Em A: Imagem registrada mediante o retinógrafo, observa-se ao detalhe de uma predominante região tapetal (estrela preta), a vasculatura dicotomizada (seta preta) e o processo falciforme (seta branca) na região ventral. Em B; imagem macroscópica após enucleação (sem o botão corneal) observa-se a região tapetal (estrela preta), não tapetal (círculo), o processo falciforme (seta branca) e o nervo óptico alongado paralelo ao processo falciforme de cor cinza (seta preta). Laboratório de Oftalmologia Hospital Veterinário Governador Laudo Natel, FCAV-Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2019.	27
Figura.5. Imagem representativa dos dois nervos ópticos divulsionados (seta branca e preta). Laboratório de Oftalmologia Hospital Veterinário Governador Laudo Natel, FCAV-Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2019.	28

Figura 6. Imagem representativa da inserção de ambos os ramos nervos (estrela branca). Laboratório de Oftalmologia Hospital Veterinário Governador Laudo Natel, FCAV-Unesp, Campus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2019.	28
Figura 7. Imagem representativa do trajeto do nervo maior em direção ventral (estrela branca). Junção dos dois nervos (estrela preta). Laboratório de Oftalmologia Hospital Veterinário Governador Laudo Natel, FCAV-Unesp, Campus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2019.	29
Figura 8. Olho divulsionado. Observa-se o recorrido do nervo óptico em direção ventral (seta branca). Laboratório de Oftalmologia Hospital Veterinário Governador Laudo Natel, FCAV-Unesp, Campus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2019.	29
Figura 9. Anatomia macroscópica e histológica do olho do pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>). Em A, corte parasagital de um dos olhos fixados em formaldeído sendo visíveis: córnea (c), a íris (i), o vítreo (v), a retina (R), a rete mirabile coróide (CR), com abundante gordura (*), o nervo óptico (NO). Em B: corte histológico parasagital (coloração de hematoxilina e eosina, 40X) em toda sua extensão de ora serrata a ora serrata (OS) e o nervo óptico (NO). Laboratório de Ictiopatologia, Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2019.	31
Figura 10. Corte transversal da retina do pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) (coloração de hematoxilina e eosina, 20X). Observa-se o EP: epitélio pigmentário; F: fotorreceptores; NE: camada nuclear externa; PE: camada plexiforme externa; NI: camada nuclear interna; PI: camada plexiforme interna, CG: células ganglionares; FN: Fibras nervosas (coloração de hematoxilina e eosina, 20x). Laboratório de Ictiopatologia, Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2019.	31
Figura 11. Espessura total da retina do pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) (coloração de hematoxilina e eosina, 20X). Laboratório de Ictiopatologia, Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2019.	32
Figura 12. Nervos ópticos do pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>). Observa-se a junção dos dois nervos ópticos (seta preta), mais curto (estrela branca) e mais longo (estrela preta). Laboratório de Ictiopatologia, Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2019.	33
Figura 13. Segmentos do nervo óptico do pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>). A: Note-se os dois segmentos um nervo menor (estrela branca) e um nervo maior (estrela preta) B: trajeto do nervo maior (estrela preta). C: Detalhe da separação dos segmentos nervo menor (estrela branca) e nervo maior (estrela preta) (40X). Laboratório de Ictiopatologia, Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2019.	33
Figura 14. Processo falciforme do pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>). Note-se a presença do músculo retrator (estrela) junto ao processo falciforme (seta). Laboratório de Ictiopatologia, Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2019.	34
 CAPÍTULO 3 - Efeitos da suplementação do camu-camu sobre a retina (<i>Myrciaria dubia</i>) de pacus (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) aloxano diabéticos.....	39

- Figura 1. Sequência da realização do ERG no pacu. 1: adaptação em ambiente ao escuro sob anestesia em um sistema recirculação simples com o uso do HMsERG em pacu anestesiado. 2: adaptação a fase clara. 3: posicionamento sobre uma esponja molhada do pacu durante a realização do ERG. 4: ERG na a fase escura observa-se o posicionamento do tubo inserido na cavidade bucal durante a anestesia de manutenção. 5: Vista frontal do pacu entubado sob anestesia de manutenção e posicionamento do eletrodo terra às 6 horas. 6: Vista lateral do posicionamento dos três eletrodos do ERG no pacu anestesiado. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2019.49
- Figura 2. Eletrorretinograma em flash, durante a fase de adaptação escotóptica de baixa amplitude em pacus (*Piaractus mesopotamicus*) não diabéticos representados por: ND0 (controle), ND500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu) ND1000 (suplementado com 1000 mg /Kg de camu-camu) e diabéticos representados por: D0 (sem tratamento), D500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu) e D1000 (suplementado com 1000 mg/Kg de camu-camu). FCAV-Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil.50
- Figura 3. Eletrorretinograma em flash, durante a fase de adaptação escotóptica de alta amplitude em pacus (*Piaractus mesopotamicus*) não diabéticos representados por: ND0 (controle), ND500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu) ND1000 (suplementado com 1000 mg /Kg de camu-camu) e diabéticos representados por: D0 (sem tratamento), D500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu) e D1000 (suplementado com 1000 mg/Kg de camu-camu). FCAV-Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil.51
- Figura 4. Eletrorretinograma flash, durante a fase clara (cones), em pacus (*Piaractus mesopotamicus*) não diabéticos representados por: ND0 (controle), ND500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu) ND1000 (suplementado com 1000 mg /Kg de camu-camu) e diabéticos representados por: D0 (sem tratamento), D500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu) e D1000 (suplementado com 1000 mg/Kg de camu-camu). FCAV-Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil.52
- Figura 5. Imagens fotográficas colhidas de pacus submetidos à retinografia. Em A: animal sob contenção manual para a realização do exame. Em B: Observa-se o posicionamento do peixe adjunto à lente auxiliar para o registro das imagens. Serviço de Oftalmologia Veterinária, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2019.53
- Figura 6. Imagem representativa dos fundos dos olhos do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) suplementados com camu-camu. com as características das alterações de vascularização segundo o seu grupo correspondente e presença do processo falciforme na região dorsal. FCAV-Unesp, Campus de Jaboticabal, SP, Brasil. Note-se a retina centralizada.53
- Figura 7. Fotomicrografia de cortes (5µm) de retinas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Em A: porção da retina posterior com a cabeça do nervo óptico (coloração de hematoxilina e eosina, 10X) B: Observa-se

- a ora serrata (coloração de hematoxilina e eosina, 40X) (seta). FCAV-Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2020.....54
- Figura 8. Fotomicrografia de corte (5µm) de retina de pacu (coloração de hematoxilina e eosina, 20X). Notem-se o EP: epitélio pigmentário; F: fotorreceptores; NE: camada nuclear externa; PE: camada plexiforme externa; NI: camada nuclear interna; PI: camada plexiforme interna, CG: células ganglionares; FN: Fibras nervosas de peixes pacus (*Piaractus mesopotamicus*). Laboratório de Ictiopatologia, Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil.55
- Figura 9. Fotomicrografia de retina no pacu (*Piaractus mesopotamicus*) representando as regiões estudadas por campo, para a avaliação da espessura total da retina em pacus. **RP**: retina posterior em contato com o nervo óptico, **RM**: retina média ou intermedia e **RA**: retina anterior em direção ao corpo ciliar. FCAV- Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil, 2020.55
- Figura 10. Médias e erro padrão relativos à espessura da retina total em pacus (*Piaractus mesopotamicus*) não diabéticos representados por: ND0 (controle), ND500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu), ND1000 (suplementado com 1000 mg /Kg de camu-camu) e diabéticos representados por: D0 (sem tratamento), D500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu) e D1000 (suplementado com 1000 mg/Kg de camu-camu). FCAV-Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil. *Médias seguidas de pelo menos por uma letra maiúscula em comum não diferiram estatisticamente ($p>0,05$).56
- Figura 11. Médias e erro padrão relativos à espessura da retina posterior em pacus (*Piaractus mesopotamicus*) não diabéticos representados por: ND0 (controle), ND500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu), ND1000 (suplementado com 1000 mg /Kg de camu-camu) e diabéticos representados por: D0 (sem tratamento), D500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu) e D1000 (suplementado com 1000 mg/Kg de camu-camu). FCAV-Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil. *Médias seguidas de pelo menos por uma letra maiúscula em comum não diferiram estatisticamente ($p>0,05$).57
- Figura 12. Médias e erro padrão da espessura da retina anterior em pacus (*Piaractus mesopotamicus*) não diabéticos representados por: ND0 (sem suplementação), ND500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu), ND1000 (suplementado com 1000 mg /Kg de camu-camu) e diabéticos representados por: D0 (sem tratamento), D500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu) e D1000 (suplementado com 1000 mg/Kg de camu-camu). FCAV-Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil. *Médias seguidas de pelo menos por uma letra maiúscula em comum não diferiram estatisticamente ($p>0,05$).....58
- Figura 13. Médias e erro padrão relativos à espessura da camada do epitélio pigmentar em pacus (*Piaractus mesopotamicus*) não diabéticos representados por: ND0 (controle), ND500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu), ND1000 (suplementado com 1000 mg /Kg de camu-camu) e diabéticos representados por: D0 (sem tratamento),

D500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu) e D1000 (suplementado com 1000 mg/Kg de camu-camu). FCAV-Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil. *Médias seguidas de pelo menos por uma letra maiúscula em comum não diferiram estatisticamente..59

Figura 14. Médias e erro padrão relativos à espessura da camada dos fotorreceptores em pacus (*Piaractus mesopotamicus*) não diabéticos representados por: ND0 (controle), ND500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu), ND1000 (suplementado com 1000 mg /Kg de camu-camu) e diabéticos representados por: D0 (sem suplementação), D500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu) e D1000 (suplementado com 1000 mg/Kg de camu-camu). FCAV-Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil. *Médias seguidas de pelo menos por uma letra maiúscula em comum não diferiram estatisticamente ($p>0,05$).....60

Figura 15. Médias e erro padrão relativos à espessura da camada nuclear externa em pacus (*Piaractus mesopotamicus*) não diabéticos representados por: ND0 (controle), ND500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu), ND1000 (suplementado com 1000 mg /Kg de camu-camu) e diabéticos representados por: D0 (sem suplementação), D500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu) e D1000 (suplementado com 1000 mg/Kg de camu-camu). FCAV-Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil. *Médias seguidas de pelo menos por uma letra maiúscula em comum não diferiram estatisticamente ($p>0,05$).....61

Figura 16. Médias e erro padrão relativos à espessura da camada plexiforme externa em pacus (*Piaractus mesopotamicus*) não diabéticos representados por: ND0 (controle), ND500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu), ND1000 (suplementado com 1000 mg /Kg de camu-camu) e diabéticos representados por: D0 (sem suplementação), D500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu) e D1000 (suplementado com 1000 mg/Kg de camu-camu). FCAV-Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil. *Médias seguidas de pelo menos por uma letra maiúscula em comum não diferiram estatisticamente ($p>0,05$).....62

Figura 17. Médias e erro padrão relativos à espessura da camada nuclear interna em pacus (*Piaractus mesopotamicus*) não diabéticos representados por: ND0 (controle), ND500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu), ND1000 (suplementado com 1000 mg /Kg de camu-camu) e diabéticos representados por: D0 (sem suplementação), D500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu) e D1000 (suplementado com 1000 mg/Kg de camu-camu). FCAV-Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil. *Médias seguidas de pelo menos por uma letra maiúscula em comum não diferiram estatisticamente ($p>0,05$).....63

Figura 18. Médias e erro padrão relativos à espessura da camada plexiforme interna em pacus (*Piaractus mesopotamicus*) não diabéticos representados por: ND0 (controle), ND500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu), ND1000 (suplementado com 1000 mg /Kg de camu-camu) e

diabéticos representados por: D0 (sem suplementação), D500 (suplementado com 500 mg /Kg de camu-camu) e D1000 (suplementado com 1000 mg/Kg de camu-camu). FCAV-Unesp, Câmpus de Jaboticabal, SP, Brasil. *Médias seguidas de pelo menos por uma letra maiúscula em comum não diferiram estatisticamente ($p>0,05$).....64

Figura 19. Caspase-3 CNE. (A) Escore final 1 (distribuição do escore 1, intensidade score 1); (B) Escore final 4 (distribuição do escore 2, intensidade score 2); (C) Escore final 2 (distribuição do escore 1, intensidade score 2); (D) Escore final 2 (distribuição do escore 1, intensidade score 2); (E) Escore final 1 (distribuição do escore 1, intensidade score 1); (F) Escore final 1 (distribuição do escore 1, intensidade score 1); DAB peroxidase contra coloração hematoxilina magnificação 40X.67

Figura 20. Caspase-3 CNI. (A) Escore final 1 (distribuição do escore 1, intensidade score 1); (B) Escore final 6 (distribuição do escore 3, intensidade score 2); (C) Escore final 2 (distribuição do escore 1, intensidade score 2); (D) Escore final 2 (distribuição do escore 2, intensidade score 1); (E) Escore final 1 (distribuição do escore 1, intensidade score 1); (F) Escore final 1 (distribuição do escore 1, intensidade score 1); DAB peroxidase contra coloração hematoxilina magnificação 40X.68

Figura 21. Caspase-9 CNE. (A) Escore final 1 (distribuição do escore 1, intensidade score 1); (B) Escore final 2 (distribuição do escore 1, intensidade score 2); (C) Escore final 1 (distribuição do escore 1, intensidade score 1); (D) Escore final 1 (distribuição do escore 1, intensidade score 1); (E) Escore final 1 (distribuição do escore 1, intensidade score 1); (F) Escore final 1 (distribuição do escore 1, intensidade score 1); DAB peroxidase contra coloração hematoxilina magnificação 40X.69

Figura 22. Caspase-9 CNI. (A) Escore final 1 (distribuição do escore 1, intensidade score 1); (B) Escore final 1 (distribuição do escore 1, intensidade score 1); (C) Escore final 2 (distribuição do escore 1, intensidade score 2); (D) Escore final 1 (distribuição do escore 1, intensidade score 2); (E) Escore final 1 (distribuição do escore 1, intensidade score 1); (F) Escore final 1 (distribuição do escore 1, intensidade score 1); DAB peroxidase contra coloração hematoxilina magnificação 40X.70

Figura 23. Índice apoptótico na retina. Observa-se o incremento significativo nos grupos D0, D500 e D1000 quando comparado com o grupo ND0. Medias e erro padrão seguidas por letras iguais não diferem significativamente de outro por teste Kruskall-Wallis ($p<0.05$).72

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 - Considerações Gerais.....	1
CAPÍTULO 2 - Caracterização mediante uso da retinografia, avaliação macroscópica e histomorfométrica da retina do Pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) ..	20
Tabela 1. Médias e erro padrão da espessura da retina e suas camadas ($p < 0.05$)..	32
CAPÍTULO 3 - Efeitos da suplementação do camu-camu sobre a retina (<i>Myrciaria dubia</i>) de pacus (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) aloxano diabéticos.....	39
Tabela 1. Classificação clínica de RDNP no pacu diabético considerada para as avaliações à retinografia	46
Tabela 2. Valores do ERG em pacus, apresentados como médias e erro padrão da amplitude do ERG e tempo implícito da fase escotópica (bastonetes).	50
Tabela. 3. Valores do ERG em pacus, apresentados como médias e erro padrão da amplitude do ERG e tempo implícito da fase escotópica (mista).	51
Tabela 4. Valores do ERG em pacus, apresentados como médias e erro padrão da amplitude do ERG e tempo implícito da fase fotópica (cones).....	51
Tabela 5. Escore clínico de lesões (média $\pm \sigma$) em pacus suplementados com extrato seco de camu-camu.....	54
Tabela 6. Espessura da retina total em pacus suplementados com camu-camu.....	56
Tabela 7. Espessura da retina posterior em pacus suplementados com camu-camu.	57
Tabela 8. Espessura da retina anterior em pacus suplementados com camu-camu.	58

Tabela 9. Espessura do epitélio pigmentado em pacus suplementados com camu-camu.	59
Tabela 10. Espessura dos fotorreceptores em pacus suplementados com camu-camu.	60
Tabela 11. Espessura da camada nuclear externa em pacus suplementados com camu-camu.	61
Tabela 12. Espessura da camada plexiforme externa em pacus suplementados com camu-camu.	62
Tabela 13. Espessura da camada nuclear interna em pacus suplementados com camu-camu.	63
Tabela 14. Espessura da camada plexiforme interna em pacus suplementados com camu-camu.	64
Tabela 15. Quantificação de vasos abertos colapsados e estreitos em pacus suplementados com camu-camu.	65
Tabela. 16. Escore de imuno-histoquímica nas camadas nuclear externa (CNE) e interna de retinas (CNI).	71
Tabela 17. Escore de imuno-histoquímica nas camadas nuclear externa (CNE) e interna (CNI).	71

CAPÍTULO 1 - Considerações Gerais

1. INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus (DM) é uma doença multifatorial de importante repercussão, principalmente em países em desenvolvimento. Entre as complicações mais comuns na saúde ocular, a cegueira manifesta-se frequentemente por causa da degeneração na retina adjunto às lesões micro e macro vasculares. A hiperglicemia altera o metabolismo da matriz extracelular das células de uma variedade de tecidos, incluindo os oculares. O DM favorece o estresse oxidativo e a glicosilação de macromoléculas da membrana basal de diversas células.

Os antioxidantes têm sido utilizados como terapia de apoio para diversas enfermidades tanto em humanos quanto em animais. Esses fármacos podem modular os radicais livres do estresse oxidativo, produtos das células condicionadas sob hiperglicemia permanente, que danifica as células retiniais. O camu-camu (*Myrciaria dubia*) é um nutracêutico reconhecido por sua exacerbada concentração de vitamina C, apresentando, portanto, propriedades antioxidantes, que favorecem o sistema imune e atua sobre rotas metabólicas do diabetes. Ainda não fora avaliado o seu efeito neuroprotetor adjunto às avaliações clínicas de rotina e análises histopatológicas. Contudo, considera-se que seu uso possa compor o arsenal terapêutico do protocolo de tratamento do diabetes, principalmente nos primeiros estádios da doença, devido às características citadas e facilidade de administração, por ser acessível e de baixo custo.

O presente estudo tem como objetivo, avaliar os efeitos do camu-camu (*Myrciaria dubia*) sobre a retina com possíveis alterações e nível de RDNP (retinopatia diabética não proliferativa) mediante eletrorretinografia e retinografia, morfologia, histopatologia, imuno-histoquímica e apoptoses de pacus aloxana-diabéticos.

3. REFERÊNCIAS¹

Alvarez Y, Cederlund ML, Cottell DC, Bill BR, Ekker SC, Torres-Vazquez J, Weinstein BM, Hyde DH, Vihtelic TS, Kennedy BN (2007) Genetic determinants of hyaloid and retinal vasculature in zebrafish. **BMC Developmental Biology** 7:1-17.

Alvarez Y, Chen K, Reynolds AL, Waghorne N, O'Connor JJ, Kennedy BN (2010) Predominant cone photoreceptor dysfunction in a hyperglycaemic model of non-proliferative diabetic retinopathy. **Disease Models & Mechanisms** 3: 236-245.

Anhê FF, et al. (2019) Treatment with camu-camu (*Myrciaria dubia*) prevents obesity by altering the gut microbiota and increasing energy expenditure in diet-induced obese mice. **Gut microbiota** 68:453-464.

Arunkumar R, Gorusupudi A, Bernstein PS (2020) The macular carotenoids: A biochemical overview. **Biochimica et Biophysica Acta Molecular and Cell Biololy of Lipids** 1-39.

Avanesov A, Malicki J (2010) Analysis of the Retina in the Zebrafish Model. **Methods in Cell Biology** 100: 153-204.

Barber AJ, Lieth E, Khin SA, Antonetti DA, Buchanan AG, Gardner TW (1998) Neural apoptosis in the retina during experimental and human diabetes: Early onset and effect of insulin. **Journal of Clinical Investigation** 102:783-791.

Bennett E, Thorpe A (2006) Review of River Fisheries Valuation in Central and South America. **Tropical River Fisheries Valuation: A Global Synthesis and Critical Review** 1: 1-46.

Berco E, Rappoport D, Pollack A, Kleinmann G, Greenwald Y (2015) Management of Diabetic Retinopathy and Other Ocular Complications in Type 1 Diabetes. **Major Topics in Type 1 Diabetes** 3:31-61.

¹ABNT-NBR 6023/2002; [http:// www.abntcolecao.com.br](http://www.abntcolecao.com.br)

Bernardos RL, Barthel LK, Meyers JR, Raymond PA (2007) Late-Stage Neuronal Progenitors in the Retina Are Radial Muller Glia That Function as Retinal Stem Cells. **The Journal of Neuroscience** 27: 7028-7040.

Bibliowicz J, Tittle RK, Gross JM (2011) Towards a better understanding of human eye disease: insights from the zebrafish, *Danio rerio*. **Progress in Molecular Biology and Translational Science** 100:287-330.

Bolton TA, Cook A, Steiner JM, Fosgate GT (2016) Pancreatic Lipase Immunoreactivity in Serum of Dogs with Diabetic Ketoacidosis. **Journal of veterinary internal medicine** 30:958-963.

Brooks DE, Komáromy AM, Källberg ME (1999) Comparative optic nerve physiology: Implications for glaucoma, neuroprotection, and neuroregeneration. **Veterinary Ophthalmology** 2:13-25.

Cameron DA, Easter SS (1995) Cone photoreceptor regeneration in adult fish retina: Phenotypic determination and mosaic pattern formation. **Journal of Neuroscience** 15:2255-2271.

Campochiaro PA, Strauss RW, Lu L, Hafi G, Wolfson Y, Shah SM, Sophie R, Mir TE, Scholl HP (2015) Is There Excess Oxidative Stress and Damage in Eyes of Patients with Retinitis Pigmentosa?. **Antioxidants & Redox Signaling** 23:643-648.

Campos FM, Ribeiro SMR, Lucia CMD, Pinheiro-Sant AHM, (2009) Optimization of methodology to analyze ascorbic and dehydroascorbic acid in vegetables. **Química Nova** 32:87-91.

Carnovali M, Luzi L, Banfi G, Mariotti M (2016) Chronic hyperglycemia affects bone metabolism in adult zebrafish scale model. **Endocrine** 54:808-817.

Castro JCG, Gutiérrez FR, Acuña CA, Cerdeira LAG, Tapullima AP, Cobos MR, Imán SAC (2013) Variación del contenido de vitamina C y antocianinas en *Myrciaria dubia* "camu-camu" **Revista de la Sociedad Química del Perú** 79:319-330.

Cerf ME (2013) Beta cell dysfunction and insulin resistance. **Frontiers Endocrinology (Lausanne)** 4:37.

Chen Y, Mehta G, Vasiliou V (2009) Antioxidant Defenses in the Ocular Surface. **The Ocular Surface** 7:176-185.

Chhablani J, Sharma A, Goud A, Peguda HK, Rao HL, Begun VU, Barteseneli G (2015) Neurodegeneration in type 2 diabetes: Evidence from spectral-domain optical coherence tomography. **Investigative Ophthalmology & Visual Science** 56:6333-6338.

Chhetri J, Jacobson G, Gueven N (2014) Zebrafish-on the move towards ophthalmological research. **Eye** 28:367-380.

Connaughton VP, Baker C, Fonde L, Gerardi E, Slack C (2016) Alternate immersion in an external glucose solution differentially affects blood sugar values in older versus younger zebrafish adults. **Zebrafish** 13: 87-94.

Cueva-Quiroz VA, Yunis-Aguinaga J, Ramos-Espinoza F, Claudiano GS, Marinho-Neto FA, Abreu SA, Moraes FR, Moraes JRE (2017). Protocolo para indução de diabetes com aloxana em pacu *Piaractus mesopotamicus*. In: **XII Reunião Científica do Instituto de Pesca, São Paulo**. Anais da XII Reunião Científica do Instituto de Pesca.

De Araújo FFA, Martins BD, Borba CSMMA (2016). Oxidative Stress and Disease. **A master regulator of oxidative stress. The Transcription Nr. f2.10**: 185-199.

Dorseman AC, Soulé S, Weger M, Bourdon E, d'Hellencourt CL, Meilhac O, Diotel N (2017) Impaired constitutive and regenerative neurogenesis in adult hyperglycemic zebrafish. **The Journal of Comparative Neurology** 525:442-458.

Ferguson HW (2006) **Systemic Pathology of Fish A Text and Atlas of Normal Tissues in Teleosts and their Responses in Disease**. London: Scotianpress p.245-265.

Fraser B, DuVal MG, Wang H, Allison WT (2013) Regeneration of Cone Photoreceptors when Cell Ablation Is Primarily Restricted to a Particular Cone Subtype. **PLoS ONE** 8:1-17.

Garcia F, Pilarski F, Onaka EM, Moraes FR, Martins ML (2007) Hematology of *Piaractus mesopotamicus* fed diets supplemented with vitamins C and E, challenged by *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture** 271:39-46.

Gemberling M, Bailey TJ, Hyde DR, Poss KD (2013) The zebrafish as a model for complex tissue regeneration. **Trends in Genetic** 29:611-620.

Ghadiri Soufi F, Arbabi-Aval E, Kanavi RM, Ahmadi H (2015) Anti-inflammatory properties of resveratrol in the retinas of type 2 diabetic rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology** 42: 63-68.

Gibelalde A, Miguel MR, Mendicute J, Ayerdi S, Martínez-Zabalegi D (2010) Prevalencia de retinopatía diabética mediante cribado con retinógrafo no midriático. **Anales del Sistema Sanitario de Navarra** 33:271-276.

Gleeson M, Connaughton V, Arneson, LS (2007) Induction of hyperglycaemia in zebrafish (*Danio rerio*) leads to morphological changes in the retina. **Acta Diabetologica** 44:157-163.

Goldblum D, Kontiola AI, Mittag T, Chen B, Danias J (2002) Non-invasive determination of intraocular pressure in the rat eye. Comparison of an electronic tonometer (TonoPen), and a rebound (impact probe) tonometer. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology** 240:942-946.

De Souza SGAE, Lellis-Santos C, Curi R, Lajolo FM, Genovese MI (2014) Frozen pulp extracts of camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh) attenuate the hyperlipidemia and lipid peroxidation of Type 1 diabetic rats. **Food Research International** 64:1-8.

Gupta SK, Kumar B, Nag TC, Agrawal SS, Agrawal R, Agrawal P, Saxena R, Srivastava S (2011) Curcumin prevents experimental diabetic retinopathy in rats

through its hypoglycemic, antioxidant, and anti-inflammatory mechanisms. **Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics** 27:123-130.

Gustavsen KA, Paul-Murphy JR, Weber IIES, Zwingenberger AL, Dunker FH, Dubielzig RR, Reilly CM, Murphy CJ (2018) Ocular anatomy of the black pacu (*Colossoma macropomum*): gross, histologic, and diagnostic imaging. **Veterinary Ophthalmology** 21: 507-515.

Halliwell B (1999) Antioxidant defence mechanisms: From the beginning to the end (of the beginning). **Free Radical Research** 31:261-272.

Hashiura T, Kimur E, Fujisawa S, Oikawa S, Nonaka S, Kurosaka D, Hitomi H (2017) Live imaging of primary ocular vasculature formation in zebrafish. **PLoS ONE** 12:1-17.

Heckler K, Kroll J (2017) Zebrafish as a model for the study of microvascular complications of diabetes and their mechanisms. **International Journal of Molecular Sciences** 18:1-9.

Hermans N, Cos P, Maes L, Bruyne TD, Berghe DV, Vlietinck AJ, Pieters L (2007) Challenges and Pitfalls in Antioxidant Research. **Current Medicinal Chemistry** 14: 417-430.

Hernández C, Monte MD, Simó R, Casini G (2016) Neuroprotection as a Therapeutic Target for Diabetic Retinopathy. **Journal of Diabetes Research** 2016:1-18.

Herrera, D (2008) **Oftalmologia Clínica en Animales de Compañía**. Buenos Aires: Intermedica. p. 211-238.

Honorato CA, Nunes CDS, Carrilho ENVM, Moraes G (2013). Efeito do processamento de dietas com diferentes níveis de carboidratos e lipídeos sobre a composição corporal e perfil de ácidos graxos do filé do pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Ciência Animal Brasileira** 14: 49-58.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2016. Pesquisa da Pecuária Municipal.

IDF, International Diabetes Federation (2019) <http://www.idf.org>

Intine RV, Olsen AS, Sarras MP (2013) A Zebrafish Model of Diabetes Mellitus and Metabolic Memory. **Journal of Visualized Experiments** 72:1-7.

Jegú M (2003) Serrasalminae (Pacus and piranhas). In: REIS RE, SOK, FERRARIS JUNIOR CJ, eds. Checklist of the freshwater fishes of South and Central America. Porto Alegre: EDIPUCRS,182-196.

Jomori RK, Carneiro DJ, Martins GMIE, Portella MC (2005). Economic evaluation of *Piaractus mesopotamicus* juvenile production in different rearing systems. **Aquaculture**, 243:175-183.

Jones TC, Hunt RD, King NW (2000) Retina. In: **Patologia Veterinária**. 6.ed. São Paulo: Manole, p.1334-1341.

Jörgens K, Stoll SJ, Pohl J, Fleming TH, Sticht C, Nawroth PP, Hammes, HP, Kroll J (2015) High tissue glucose alters intersomitic blood vessels in zebrafish via methylglyoxal targeting the VEGF receptor signaling cascade. **Diabetes** 64: 213-225.

Kalra S, Gupta Y (2015) Diagnosis of Diabetes. **Journal of Pakistan Medical Association** 65:336-337.

Karihtala P, Soini Y (2007) Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. **Apmis** 115:81-103.

Kontiola AI, Goldblum D, Mittag T, Danias J (2001) The induction/impact tonometer: A new instrument to measure intraocular pressure in the rat. **Experimental Eye Research** 73:781-785.

Kowluru RA, Zhong Q, Santos JM, Thandampallayam M, Putt D, Gierhart DL (2014) Beneficial effects of the nutritional supplements on the development of diabetic retinopathy. **Nutrition & Metabolism** 11: 2-11.

Kumar B, Gupta SK, Nag TC, Srivastava S, Saxena R, Jha KA, Srinivasan BP (2014) Retinal neuroprotective effects of quercetin in streptozotocin-induced diabetic rats. **Experimental Eye Research** 125:193-202.

Lai AKW, Lo ACY (2013) Animal Models of Diabetic Retinopathy: Summary and Comparison. **Journal Diabetes Research** 2013:1-29.

Lenzen S (2008) The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. **Diabetologia** 51:216-226.

Link BA, Collery RF (2015) Zebrafish Models of Retinal Disease. **Annual Review of Vision Science** 1:125-153.

Majumdar S, Srirangam R (2010) Potential of the Bioflavonoids in the Prevention/Treatment of Ocular Disorders. **Journal of Pharmacy and Pharmacology** 176: 951-965.

Martínez-González MA, Salas-Salvadó J, Estruch R, Corella D, Fitó M, Ros E (2015) Benefits of the Mediterranean Diet: Insights from the PREDIMED Study. **Progress in Cardiovascular Diseases** 58:50-60.

Mcmichael MA (2007) Timely Topics in Nutrition. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 231:714-720.

Metz CN, Hudson LK, Pavlov VA (2016) Rodents Models of Diabetes. **Principles of Diabetes Mellitus** 1-25.

Miyashita T, Koizumi R, Myoda T, Sagane Y, Niwa K, Watanabe T, Minami K (2018) Data on a single oral dose of camu-camu (*Myrciaria dubia*) pericarp extract on flow-mediated vasodilation and blood pressure in young adult humans. **Data in Brief** 16: 993-999.

Morris AC, Scholz TL, Brockerhoff SE, Fadool JM (2008) Genetic dissection reveals two separate pathways for rod and cone regeneration in the teleost retina. **Developmental Neurobiology** 68:605-619.

Murrell LR, Nace PF (1958) Experimental Diabetes in the Catfish: Normal and Alloxan-Diabetic Blood Glucose and Pancreatic Histology. **Endocrinology** 64:542-550.

Nascimento OV, Boleti AP, Yuyama LKO, Lima ES (2013). **Anais da Academia Brasileira de Ciencias** 85:355-363.

Neves LC, da Silva VX, Pontis JA, Flach A, Roberto SR (2015) Bioactive compounds and antioxidant activity in pre-harvest camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh] fruits. **Scientia Horticulturae** 186:223-229.

Niaz K, Maqbool F, Khan F, Hassan FI, Momtaz S, Abdollahi M (2018) Comparative occurrence of diabetes in canine, feline, and few wild animals and their association with pancreatic diseases and ketoacidosis with therapeutic approach. **Veterinary World** 11:410-422.

Olsen AS, Sarras MP, Intine RV (2010) Limb Regeneration is Impaired in an Adult Zebrafish Model of Diabetes Mellitus. **Wound Repair and Regeneration** 18:532-542.

Opara EC (2006) Oxidative Stress. **Disease-a-Month** 52:183-198.

Pearsall EA, et al. (2019) Neuroprotective effects of PPAR α in retinopathy of type 1 diabetes. **PLoS ONE** 14:1-17.

Pellón M, Rojas M, Yaikin P, Del Sol M (2015). Estudio Morfológico de la Retina de Salmones (*Salmo salar*). **International Journal of Morphology** 33:788-793.

Reiter CEN, Sandirasegarane L, Wolpert EB, Klinger M, Simpson IA, Barber AJ, Antonetti DA, Kester M, Gardner TW (2003) Characterization of insulin signaling in rat retina in vivo and ex vivo. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism** 285:4 48-4.

Simo R, Carrasco E, García-Ramírez M, Hernández C (2006) Angiogenic and Antiangiogenic Factors in Proliferative Diabetic Retinopathy. **Current Diabetes Reviews** 2:71-98.

Sivron TA, Cohen A, Hirschberg DL, Jeserich G, Schwartz M (1991) Soluble factor(s) produced in injured fish optic nerve regulate the postinjury number of oligodendrocytes: Possible role of macrophages. **Glia** 4:591-601.

Slatter D (2009) **Fundamentos de Oftalmologia Veterinária**, 4^a ed. Saunders, Philadelphia EUA p. 21-25.

Sohn EH, et al. (2016) Retinal neurodegeneration may precede microvascular changes characteristic of diabetic retinopathy in diabetes mellitus. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 113: E2655-E2664.

Stem MS, Gardner TW (2013) Neurodegeneration in the Pathogenesis of Diabetic Retinopathy: Molecular Mechanisms and Therapeutic Implications. **Current Medicinal Chemistry** 20: 3241-3250.

Suganya N, Bhakkiyalakshmi E, Sarada DVL, Ramkumar KM (2016) Reversibility of endothelial dysfunction in diabetes: Role of polyphenols. **British Journal of Nutrition** 116:223-246.

Szkudelski T (2001) The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. **Physiological Research** 50: 536-546.

Tovar MO, Obando MJ, Gómez E, Caldas ML, Hurtado H (2009) Histología y morfometría del ojo del pez dulceacuícola *Paracheirodon axelrodi* (Characiformes: Characidae). **Revista de Biología Tropical** 57:1107-1118.

Ueda H, Kuroiwa E, Tachibana Y, Kawanishi K, Ayala F, Moriyasu M, (2004) Aldose reductase inhibitors from the leaves of *Myrciaria dubia* (H. B. & K.) McVaugh. **Phytomedicine** 11:652-656.

Viswanath K, Imcgavin DDM (2003) Diabetic Retinopathy: Clinical Findings and Management. **Community Eye Health** 16:21-24.

Wan J, Goldman D (2016) Retina regeneration in zebrafish. **Current Opinion in Genetics & Development** 40: 41-47.

Wang Y, Chen S, Yu O (2011) Metabolic engineering of flavonoids in plants and microorganisms. **Applied Microbiology and Biotechnology** 91:949-956.

Wang W, Hernandez J, Moore C, Jackson J, Narfström K (2016) Antioxidant supplementation increases retinal responses and decreases refractive error changes in dogs. **Journal of Nutritional Science** 5:1-7.

West IC (2000) Radicals and oxidative stress in diabetes. **Diabetic Medicine** 17:171-180.

WHO, Global Report on Diabetes (2016).

Willcox JK, Ash SL, Catignani GL (2004) Antioxidants and prevention of chronic disease. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** 44:275-295.

Yunis-Aguinaga J, Claudiano GS, Marcusso PF, Manrique WG, Engrácia MJR, Moraes FR, Fernandes JBK (2015) *Uncaria tomentosa* increases growth and immune activity in *Oreochromis niloticus* challenged with *Streptococcus agalactiae*. **Fish and Shellfish Immunology** 47: 630-638.

Yunis-Aguinaga J, Fernandes DC, Eto SF, Claudiano GS, Marcusso PF, Marinho-Neto FA, Fernandes JBK, Moraes FR, Engrácia MJR (2016) Dietary camu-camu, *Myrciaria dubia*, enhances immunological response in Nile tilapia. **Fish and Shellfish Immunology** 58:284-291.

Zeng K, Yang N, Wang D, Li S, Ming J, Wang J, Yu X, Song Y, Zhou X, Yang Y (2016) Resveratrol Prevents Retinal Dysfunction by Regulating Glutamate Transporters, Glutamine Synthetase Expression and Activity in Diabetic Retina. **Neurochemical Research** 41:1050-1064.

Zouache MA, Eames I, Samsudin A, (2016) Allometry and scaling of the intraocular pressure and aqueous humour flow rate in vertebrate eyes. **PLoS ONE** 11:1-25.