

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 23/08/2018.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**EFEITOS DA SERICINA DO BICHO-DA-SEDA (*Bombyx mori*)
SOBRE OS FENÓTIPOS NUCLEARES E NA REPARAÇÃO
DA LESÃO ULCERATIVA EM CÉLULAS DO EPITÉLIO
CORNEAL DE RATOS DIABÉTICOS**

Karina Eliana Herencia Bueno
Médica Veterinária

2017

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

**EFEITOS DA SERICINA DO BICHO-DA-SEDA (*Bombyx mori*)
SOBRE OS FENÓTIPOS NUCLEARES E NA REPARAÇÃO
DA LESÃO ULCERATIVA EM CÉLULAS DO EPITÉLIO
CORNEAL DE RATOS DIABÉTICOS**

Karina Eliana Herencia Bueno

Orientador: Prof. Dr. José Luiz Laus

Coorientadora: Profa. Dra. Marcela Aldrovani

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp,
Câmpus de Jaboticabal, como parte das
exigências para obtenção do título de Mestre
em Cirurgia Veterinária.**

2017

B928e Bueno, Karina Eliana Herencia
Efeitos da sericina do bicho-da-seda (*Bombyx mori*) sobre os
fenótipos nucleares e na reparação da lesão ulcerativa em células do
epitélio corneal de ratos diabéticos / Karina Eliana Herencia Bueno.
-- Jaboticabal, 2017
ix, 56 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017
Orientador: José Luiz Laus
Coorientadora: Marcela Aldrovani Rodriguez
Banca examinadora: Priscila Cardoso Cristovam, Márcia Rita
Fernandes Machado
Bibliografia

1. Cromatina. 2. Hiperglicemia. 3. Nucléolo. 4. Oftalmologia. 5.
Soro. 6. Superfície ocular. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:617.7:599.323

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

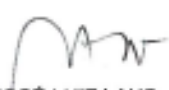
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EFEITOS DA SERICINA DO BICHO-DA-SEDA (*Bombyx mori*) SOBRE OS FENÓTIPOS NUCLEARES E NA REPARAÇÃO DA LESÃO ULCERATIVA EM CÉLULAS DO EPITÉLIO CORNEAL DE RATOS DIABÉTICOS

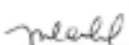
AUTORA: KARINA ELIANA HERENCIA BUENO

ORIENTADOR: JOSÉ LUIZ LAUS

COORDENADORA: MARCELA ALDROVANI RODRIGUES

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


Prof. Dr. JOSÉ LUIZ LAUS
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Profa. Dra. PRISCILA CARDOSO CRISTOVAM
UNIFESP / São Paulo, SP


Profa. Dra. MÁRCIA RITA FERNANDES MACHADO
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 23 de fevereiro de 2017

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Karina Eliana Herencia Bueno – nascida em 12 de Abril de 1984, no distrito de Jesus María, Lima, Peru. Filha de Consuelo Bueno de Herencia e Fernando Miguel Herencia Elliot. Coursou Medicina Veterinária entre 2003 e 2010, na Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH). Realizou, em 2014, 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, com bolsa do Programa de Estudantes-Convênio de Pós-Graduação (PEC-PG) do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Brasil (CNPq). Desenvolve atividades de extensão junto ao Serviço de Oftalmologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” (UNESP), Câmpus de Jaboticabal.

EPÍGRAFE

*Nada te perturbe, nada te espante,
Tudo passa, Deus não muda,
A paciência tudo alcança;
Quem a Deus tem, nada lhe falta: só Deus basta*

Santa Teresa D'Ávila

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Consuelo Bueno de Herencia e Fernando Miguel Herencia Elliot, minha tia Elena e meus irmãos Elizabeth, Fernando e Jhony, pela compreensão o tempo todo.

AGRADECIMENTOS

A Jesus meu senhor e dono da minha vida, pelos milagres que ele me deu e por ter me inspirado a continuar nessa etapa do caminho que ele escolheu para mim, por seu perdão todos os dias, por sua proteção, seus ensinamentos, e sua confiança.

A minha mãe, Nossa Senhora Aparecida pela companhia, sua interseção e as graças concedidas.

A São Frâncico de Assis e a São Martin de Porres pela ajuda com os animais, os quais pedi suas intercessões e os cuidados que deram aos meus Lucas e Bobby.

Ao grupo de oração “Cristo Vive”, pelas orações e os terços que fizeram com minha família.

A minha mãe Consuelo pela compreensão, paciência e apoio.

Ao meu pai Miguel pelos cuidados... do céu ele olha a cada dia para mim.

A minha tia Elena pelo apoio, compreensão e ajuda.

Aos meus irmãos Elizabeth, Fernando e Jhony pela ajuda e apoio.

A minha prima Marisol pela companhia, seus conselhos e carinho.

Ao meu querido professor Laus por ter me aceitado em seu grupo de pesquisa e no serviço de oftalmologia, pela amizade, os conselhos e sua compreensão.

A Dra. Marcela Aldrovani por todas as oportunidades que me deu para aprender, pelo seu tempo e dedicação na condução da pesquisa, por seus ensinamentos, sua preocupação comigo e compreensão.

Ao Dr. Ivan Padua pelos conselhos o tempo todo, que parecia às vezes “um irmão”, pela confiança no ambulatório, seus ensinamentos e parceria.

Ao professor Joaquim Mansano Garcia por ter cedido espaço e gaiolas para manutenção dos animais da pesquisa.

Ao Sr. Edson, funcionário do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da FCAV, pelo auxílio com a autoclave.

A Camila Balthazar pela alegria e risadas, companhia, confiança, conselhos e carinho.

A Flor Claros e o Edwin pela companhia e ajuda quando mais precisei.

A Thais Morato pela amizade, paciência, companhia, conselhos, ajuda e por adotar meus dias no Brasil.

A Daniela Moura pela amizade ajuda em todo momento, companhia, parceria, suas brincadeiras, tudo foi bem mais fácil com você.

Ao Roberto Thiesen e a Roberta Crivelaro pela ajuda durante o experimento, na minha mudança, pelos seus conselhos, ensinamentos e paciência.

Ao Alexandre Sobrinho por sua ajuda, compressão (aquele abraço que você me deu quando mais precisava), conselhos, ensinamentos e paciência.

A Karina Kobashigawa por sua ajuda, seu tempo e ensinamentos.

A Fausto De Almeida pela ajuda, tempo e disposição.

A Marcela Rosa pela ajuda e parceria.

Ao Dr. Bernades por seus conselhos no caminho da oftalmologia.

A todos os membros da república CP, especialmente Thaisa, Fernanda S, Mariana, Fernanda R, Bruna, Giovanna, Gabriela, Marcelle, e Dona Ilza pela companhia, ajuda e cuidados.

A Itatiele pela ajuda, apoio, alegria e companhia.

Ao fomento fornecido pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) com processo número 190608/2014-5, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e à Pró-Reitoria de Pesquisa da Unesp.

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Pesquisa do Serviço de Oftalmologia, Hospital Governador Laudo Natel e Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/Unesp), Câmpus de Jaboticabal, com auxílio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e da Pró-Reitoria de Pesquisa da Unesp.

SUMÁRIO

	Página
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO PROTOCOLO DA PESQUISA PELA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA).....	ii
RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	iv
LISTA DE ABREVIATURAS	v
LISTA DE FIGURAS.....	vi
CAPITULO 1 - Considerações Gerais	1
1. Introdução	1
2. Revisão de literatura	2
2.1 Diabetes mellitus.....	2
2.2 Modelos para estudos sobre DM.....	4
2.3 O epitélio corneal.....	5
2.4 Reepitelização corneal no DM e produtos finais de glicosilação avançada.....	6
2.5 Diabetes mellitus, hiperglicemia e o núcleo celular.....	8
2.6 Sericina do casulo do bicho-da-seda (<i>Bombyx mori</i>) e “wound healing”.....	12
3. Referencias.....	14
CAPITULO 2 - Chromatin supra-organization in corneal epithelial cells of diabetic versus non-diabetic rats and the nuclear effects of the instillation of sericin from silkworm cocoons	25
2.1 Abstract	26
2.2 Introduction	27
2.3 Material and methods.....	29
2.4 Results	33
2.5 Discussion.....	43
2.6 Conclusions	47
2.7 References	48
CAPITULO 3- Considerações Finais	56
3.1 Conclusões	56
3.2 Perspectivas	56



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

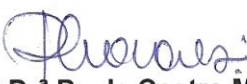


CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 9518/15 do trabalho de pesquisa intitulado **"Efeitos da sericina do casulo do bicho da seda (*Bombyx mori*) no tratamento das ceratites ulcerativas experimentais em ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) com e sem diabetes"**, sob a responsabilidade do Prof. Dr. José Luis Laus está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 12 de junho de 2015.

Jaboticabal, 12 de junho de 2015.


Profª Drª Paola Castro Moraes
Coordenadora – CEUA

EFEITOS DA SERICINA DO BICHO DA SEDA (*Bombyx mori*) SOBRE OS FENÓTIPOS NUCLEARES E NA REPARACAO DA LESAO ULCERATIVA EM CÉLULAS DO EPITÉLIO CORNEAL DE RATOS DIABÉTICOS

RESUMO – A córnea de pacientes diabéticos pode desenvolver defeitos epiteliais que comprometem a visão e causam dor. Os efeitos do diabetes sobre algumas características das células epiteliais corneais, notadamente os fenótipos nucleares, são ainda desconhecidos. A sericina é um polímero extraído do casulo do bicho-da-seda, que, aparentemente, promove reparação corneal em ratos. Com esta pesquisa estudou-se a produção lacrimal, o limiar de sensibilidade corneal (Cochet-Bonnet) e a pressão dos olhos de ratos com três semanas de diabetes induzido por aloxana (glicemia sérica ≥ 400 mg/dL). Os efeitos da instilação diária (a cada 6 horas, por quatro dias) de sericina 10% sobre a cinética de reepitelização de córneas cauterizadas (com álcali), em ratos diabéticos, foram estudados e comparados aos efeitos de placebo (solução salina balanceada) e de soro equino (uma opção terapêutica vigente). A pesquisa traz, também, informações sobre o tamanho dos núcleos (área e perímetro), o estado de compactação e a textura da cromatina, o conteúdo de DNA (ploidia) e a distribuição das regiões organizadoras de nucléolos impregnadas por íons prata (AgNORs) em células epiteliais corneais de ratos diabéticos (hiperglicêmicos) e de não diabéticos (normoglicêmicos). Os núcleos das células que reepitelizaram as córneas cauterizadas, após tratamento com sericina 10%, solução salina balanceada ou soro, foram avaliados. Os resultados mostraram que os olhos dos ratos diabéticos diferiram dos de não diabéticos quanto ao limiar de sensibilidade corneal ao toque ($2,07 \pm 0,52$ cm nas córneas de diabéticos vs. $4,00 \pm 0,56$ cm nas de não diabéticos; $p = 0,01$). Relativamente à cinética de reepitelização, os tempos de fechamento das úlceras foram de 30 horas para as córneas tratadas com sericina 10% ou com soro e de 36 horas para as que receberam solução salina balanceada. Os núcleos das células epiteliais das córneas dos diabéticos, exceto em amostras que receberam sericina 10%, apresentaram cromatina compactada, em comparação aos núcleos das células do epitélio corneal dos ratos não diabéticos. Núcleos com tendência à tetraploidia só não foram observados no epitélio corneal dos ratos não diabéticos. Todos os epitélios apresentaram frequências reduzidas de núcleos sub-diploides. As córneas dos ratos diabéticos apresentaram núcleos com frações reduzidas de áreas AgNOR positivas. Em conclusão, o diabetes alterou a supra-organização cromatínica e a ploidia em células epiteliais corneais em ratos diabéticos aloxênicos com três semanas de hiperglicemia. A sericina 10%, aparentemente, reduz ou inibe estímulos que alteram a funcionalidade da cromatina das células epiteliais corneais em ratos diabéticos. Ademais, mostrou-se tão efetiva quanto o soro na promoção da reepitelização corneal.

Palavras-chave: cromatina, hiperglicemia, nucléolo, oftalmologia, soro, superfície ocular.

EFFECTS OF SILKWORM COCOON (*Bombyx mori*) SERICIN IN THE NUCLEAR PHENOTYPES AND THE REPARATION OF ULCERATIVE LESION IN CELLS OF THE CORNEAL EPITHELIUM OF DIABETIC RATS

ABSTRACT – The cornea of diabetic patients can develop epithelial defects that promote vision deficit and pain. The effects of diabetes/hyperglycemia on some characteristics of corneal epithelial cells, notably the nuclear phenotypes are still unknown. The sericin is a polymer extracted from the cocoons of the silkworm, which seems to promote reepithelization of burned cornea in rats. In this study, tear production, corneal touch threshold (Cochet-Bonnet) and intraocular pressure of alloxan-induced diabetes rats with three weeks of hyperglycemia (serum glucose ≥ 400 mg/dL) were studied. In addition, the effects of daily instillation (every 6 hours for 4 days) of 10% sericin over re-epithelization kinetics of burned corneas from diabetic were also studied and compared to the effects of placebo (balanced salt solution) and horse serum (an actual therapeutic option). The research also brings information about the size of the nuclei (area and perimeter), the state of compactation and the texture of chromatin, the DNA content (ploidy) and the distribution of silver-stained nucleolar organizing regions (AgNORs) of epithelial cells in corneas of diabetic (hyperglycemic) and non-diabetic rats (normoglycemic). Nuclear phenotypes of cells that participated of the re-epithelization of the burned corneas after treatment with 10%sericin, balanced salt solution or serum were studied. Results showed that the eyes of diabetic rats did not differ from the ones from non-diabetic ones, just like the tear production and intraocular pressure, but differences regarding the corneal touch threshold (2.07 ± 0.52 cm in the corneas of diabetic vs. 4.00 ± 0.56 cm in non-diabetics; $p = 0.01$) were found. Regarding re-epithelization kinetics, the healing time of the burns were 30 hours for corneas treated with 10% sericin or serum and 36 hours in those receiving 0balanced salt solution. The nuclei of epithelial cells in the corneas of diabetic patients, except in samples that received 10% sericin, showed more condensed chromatin than the cell nuclei from the corneal epithelium of non-diabetic rats. Nuclei with trend to the tetraploidy were not observed only in the corneal epithelium of non-diabetic rats. All epithelia showed reduced frequency of sub-diploid nuclei. The corneas of the diabetic rats showed nuclei with reduced fractions of positive AgNOR areas. As conclusion, diabetes altered chromatin supra-organization and ploidy levels in corneal epithelial cells of rats with 3 weeks of hyperglycemia. Instillation of 10% sericin seems reduce or block stimulus that affect DNA/chromatin during diabetes, while it promotes re-epithelization.

Keywords: chromatin, hyperglycemia, nucleolus, ocular surface, ophthalmology serum.

LISTA DE ABREVIATURAS

AGEs	“advanced glycated end-products”
AgNORs	região organizadoras de nucléolos impregnadas por íons prata silver stained NORs
ARVO	animals in Ophthalmic Vision and Research
BSS	solução salina balanceada balanced salt solution
CTT	corneal touch threshold
DM	diabetes mellitus
H3K4	dimetilação de lisina 4 da histona 3
HDAC	histona deacetilases
HGF	fator de crescimento de hepatócitos
IDF	“International Diabetes Federation”
IGF-1	fator de crescimento insulínico tipo 1
IOD	integrated optical density
IOP	intraocular pressure
Md	mediana median
NF- κ B	fator nuclear kappa beta nuclear factor kappa beta
NGF	fator de crescimento do nervo
NOD	“non-obese diabetic”
NOR	região organizadora do nucléolo nucleolar organizing regions
OD	optical density
OGF	fator de crescimento opioide
OMS	organização Mundial de Saúde
R ²	quadratic regression analysis
SD	standard deviation
SDtd	standard deviation of the gray values per nucleus
STT I	modified Schirmer I test
TGF- β	fator de necrose tumoral beta
UA	arbitrary units
$\bar{X}$	Mean
2 C	diploid class

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1	Página
Fig.1. Incidência global de DM estimada pela “International Diabetes Federation”, no ano de 2015, com projeção de prevalência para o ano de 2040. (adaptado de http://www.idf.org/about-diabetes/facts-figures).....	3
Fig. 2. Diagrama ilustrando como se formam os AGEs em uma proteína fibrilar hipotética. A produtos de Amadori; R, amina livre (adaptado de STITT,2001).....	8
Fig. 3. Estrutura básica da cromatina. A fibra de 11 nm consiste de DNA enrolado num octâmero de histonas (nucleossomos) disposto a intervalos regulares. O empacotamento dos nucleossomos cria uma fibra espiral, de 30 nm, que corresponde à estrutura secundária da cromatina (adaptado de http://www.hercwules.wordpress.com).....	9
CAPÍTULO 2	
Fig. 1. Ratio of re-epithelialized corneas in each study group at different time periods. Corneal re-epithelialization was evaluated at regular intervals (6 hours) until complete healing of the burns.....	34
Fig. 2. Kinetics of corneal re-epithelialization. (A-C), photographic images of alkali-burned corneas from eyes treated with 10 % sericin, BSS, or serum eye drops, observed at the indicated times; (D) temporal dynamics of corneal healing in each study group.....	35
Fig. 3. Photomicrographs of corneal sections (7 um) stained using Feulgen reaction to detect chromatin/DNA. The magenta-stained structures correspond to cell nuclei. (A) epithelial cells nuclei of non-diabetic corneas; (B) epithelial cell nuclei of diabetic corneas that have not been burned; (C), epithelial cell nuclei of diabetic corneas treated with 10 % sericin; (D) epithelial cell nuclei of diabetic corneas treated with BSS; (E), epithelial cell nuclei of diabetic corneas treated with serum eye drops. Bar = 20 micrometers.....	36

Fig. 4. Scatter plots showing quadratic regression analysis (R^2) of the nuclear area (μm^2) versus Feulgen-DNA values, in arbitrary units (AU), established for 1000 randomly selected nuclei from each study group. (A) non-diabetic corneas; (B) diabetic corneas that have not been burned; (C), diabetic corneas treated with 10 % sericin; (D) diabetic corneas treated with BSS; (E), diabetic corneas treated with serum eye drop..... **39**

Fig. 5. Frequency histograms of Feulgen-DNA values, in arbitrary units (AU), from 1000 randomly selected nuclei in each study group. (A) non-diabetic corneas; (B) diabetic corneas that have not been burned; (C), diabetic corneas treated with 10 % sericin; (D) diabetic corneas treated with BSS; (E), diabetic corneas treated with serum eye drops; (F), non-diabetic rat lymphocytes, as a diploid reference. The circles in the areas of figures B-E delimit nuclear populations with elevated ploidy..... **40**

Fig. 6. Photomicrographs of corneal sections ($7\ \mu\text{m}$) after AgNOR stain. The dark brown granules within the cell nuclei correspond to AgNORs (arrows). (A) epithelial cells nuclei of non-diabetic corneas; (B) epithelial cell nuclei of diabetic corneas that have not been burned; (C), epithelial cell nuclei of diabetic corneas treated with 10 % sericin; (D) epithelial cell nuclei of diabetic corneas treated with BSS; (E), epithelial cell nuclei of diabetic corneas treated with serum eye drops. Bar = 10 micrometers..... **41**

Fig. 7. Bar graphs of median values, with interquartile ranges (error bars), related to the size of silver stained nucleolar organizer regions (positive AgNOR) in each study group (A) and fractions of the nuclear area occupied by AgNORs (B). Sample size: 250 nuclei randomly selected per group. The areas were calculated from images of nuclei studied using an Olympus BX-53 microscope with a 100/0.75 objective..... **42**

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

1. Introdução

O diabetes mellitus (DM) é uma doença que altera o metabolismo da matriz extracelular e das células de uma variedade de tecidos, incluindo os oculares, atuando para o desenvolvimento de afecções oftálmicas. Não raramente, pacientes diabéticos desenvolvem ulcerações e defeitos epiteliais corneais. O diabetes causa estresse oxidativo e glicosilação de macromoléculas da membrana basal que apoia o epitélio da córnea. Todavia, desconhecem-se seus eventuais efeitos sobre as organelas das células epiteliais corneais, incluindo o núcleo.

Estudar a biologia do núcleo celular é importante porque ele responde com adaptação funcional a uma série de estímulos microambientais. Além disso, alterações na fisiologia nuclear têm sido associadas com o surgimento e a progressão de doenças. O principal componente do núcleo celular é a cromatina, uma macromolécula fibrilar composta por DNA e nucleoproteínas, cujo estado de supra-organização relaciona-se com metabolismo celular, expressão gênica e homeostasia tecidual.

Alguns fármacos podem modular a fisiologia do núcleo celular e a estrutura da cromatina, inclusive revertendo alterações ditas acidentais ou patológicas. Neste contexto, a sericina é um polímero a ser explorado. Ela é extraída dos casulos do bicho-da-seda, por degomagem. Apresenta propriedades antioxidantes, favorece a reepitelização de córneas ulceradas e, aparentemente, age sobre rotas metabólicas associadas com remodelação de cromatina.

Objetivou-se, com o presente estudo, avaliar fenótipos nucleares (área, perímetro, supra-organização de cromatina e conteúdo de DNA) em células epiteliais corneais de ratos diabéticos (hiperglicêmicos), comparando-os aos de células epiteliais corneais de ratos não diabéticos (normoglicêmicos). Estudaram-se, também, parâmetros oftálmicos, como produção lacrimal, pressão intraocular e sensibilidade corneal ao toque. Os efeitos da instilação de sericina 10% sobre a reepitelização de córneas cauterizadas em ratos diabéticos foram estudados,

comparativamente aos efeitos de placebo (solução salina balanceada) e de soro xenógeno (equino). Os fenótipos nucleares das células que reepitelizaram a córnea cauterizada e tratada com as diferentes soluções supracitadas foram igualmente estudados.

CAPÍTULO 3 – Considerações Finais

3.1 Conclusões

Os resultados do presente estudo mostraram que o diabetes diminuiu o limiar de sensibilidade corneal ao toque e alterou os fenótipos nucleares, notadamente a supra-organização cromatínica e a ploidia das células epiteliais corneais em ratos diabéticos com três semanas de hiperglicemia. É possível que alterações nucleares aqui descritas sejam a razão para o surgimento ou a progressão de afecções corneais em indivíduos diabéticos.

Relativamente à sericina 10%, os resultados sugerem que ela reduz ou inibe estímulos que suscitam alterações na funcionalidade da cromatina de células epiteliais corneais durante o diabetes induzido por aloxana em ratos. Ademais, a sericina mostrou-se tão efetiva quanto o soro na promoção de reepitelização em córneas cauterizadas por álcali.

3.2 Perspectivas

Os resultados deste estudo permitem prospectar novas pesquisas voltadas à análise da expressão gênica e ao mapeamento de enzimas epigenéticas associadas à cromatina em células epiteliais corneais de pacientes (humanos ou veterinários) diabéticos, bem como em células/tecidos tratados, “in vitro” ou “in vivo”, com diferentes concentrações de sericina. Há expectativas de que a modulação farmacológica da cromatina/DNA se torne opção terapêutica para impedir o surgimento ou a progressão de complicações oculares associadas ao diabetes.