



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ**  
**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**  
**DOUTORADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

**RENATA PRADO VASCONCELOS**

**DIMORFISMO SEXUAL NA HOMEOSTASE REDOX EM TECIDO ADIPOSEO  
DE RATOS WISTAR COM OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA  
HIPERLIPÍDICA**

**FORTALEZA**

**2018**

RENATA PRADO VASCONCELOS

DIMORFISMO SEXUAL NA HOMEOSTASE REDOX DE TECIDO ADIPOSEO  
DE RATOS WISTAR COM OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA  
HIPERLIPÍDICA

Tese apresentada ao curso de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas do Instituto Superior de Ciências Biomédicas da Universidade Estadual do Ceará - UECE como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Andreлина Noronha Coelho de Souza  
Co-orientador: Prof. Dr. Ariclécio Cunha de Oliveira

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Universidade Estadual do Ceará

Sistema de Bibliotecas

Prado Vasconcelos, Renata.

Dimorfismo sexual na homeostase redox em tecido adiposo de ratos wistar com obesidade induzida por dieta hiperlipídica [recurso eletrônico] / Renata Prado Vasconcelos. - 2018.

1 CD-ROM: il.; 4 ¼ pol.

CD-ROM contendo o arquivo no formato PDF do trabalho acadêmico com 103 folhas, acondicionado em caixa de DVD Slim (19 x 14 cm x 7 mm).

Tese (doutorado) - Universidade Estadual do Ceará, Instituto Superior de Ciências Biomédicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Fortaleza, 2018.

Área de concentração: Fisiologia Endócrina e Metabolismo.

Orientação: Prof.ª Dra. Andrelina Noronha Coelho de Souza.

Coorientação: Prof. Ph.D. Ariclecio Cunha de Oliveira.

1. Obesidade. 2. Dimorfismo sexual. 3. Estresse oxidativo . I. Título.

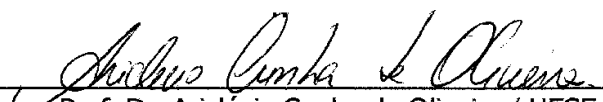
RENATA PRADO VASCONCELOS

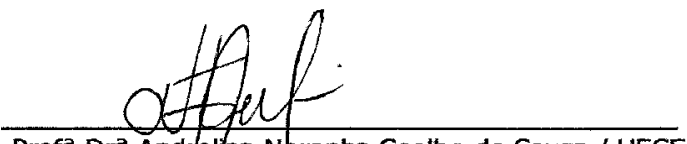
DIMORFISMO SEXUAL NA HOMEOSTASE REDOX EM TECIDO ADIPOSEO  
DE RATOS WISTAR COM OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA  
HIPERLIPÍDICA


Tese apresentada ao curso de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas do Instituto Superior de Ciências Biomédicas da Universidade Estadual do Ceará - UECE como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciências Fisiológicas.

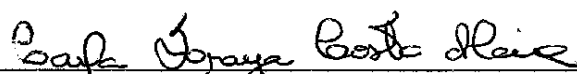
Aprovada em:

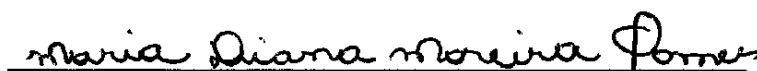
BANCA EXAMINADORA

  
Prof. Dr. Ariclécio Cunha de Oliveira / UECE  
Universidade Estadual do Ceará – UECE

  
Profª Drª Andreilma Noronha Coelho de Souza / UECE  
Universidade Estadual do Ceará – UECE

  
Profª Drª Luciana Catunda Brito  
Universidade Federal do Ceará- UFC

  
Profª Drª Carla Soraya Costa Maia  
Universidade Estadual do Ceará – UECE

  
Profª Drª Maria Diana Moreira Gomes  
Universidade Estadual do Ceará – UECE

Dedico este trabalho aos meus pais  
(Gorete e Zezinho) e aos meus  
irmãos (Hilda e Jocel)

## **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

Ao “pai”, amigo, colega, companheiro, mentor, professor e co-orientador Ariclécio Cunha de Oliveira. Porque você consegue ser tudo isso em uma pessoa só.

Obrigada pelos ensinamentos diários, conversas, puxões de orelha, almoços e jantares, risadas e momentos de descontração.

Obrigada ainda pela sua dedicação, pela infinita paciência em me explicar reiteradamente o que eu não entendo e, somente você, em sua sapiência paterna me faz compreender.

Obrigada por me acolher como “filha” e por me ensinar o complexo de maneira tão simples assim como me fala do óbvio e, assim, fazer de cada dificuldade uma batalha vencida.

Obrigada pela confiança e fidelidade que sempre depositou em mim. Também sei que posso confiar em você!

Obrigada por me passar sua calma e serenidade nos momentos difíceis!

Obrigada por SEMPRE me mostrar o caminho certo e por sua generosidade em dividir todo o seu conhecimento.

Obrigada por ser essa pessoa íntegra de caráter inabalável, além de estar sempre disposto a me ajudar, independente da hora!

Obrigada por me receber e me ouvir SEMPRE que preciso e por sempre ‘deixar a porta’ aberta para mim!

Obrigada por me surpreender diariamente, fazendo com que cada vez mais eu queira me espelhar em você, seja como professor ou como ser humano!

Obrigada por me acompanhar por esses dois anos sempre me guiando e fazendo dos percalços problemas simples de serem resolvidos.

Obrigada por ser nosso ANJO!!

Obrigada por me mostrar o melhor caminho e por trilhá-lo junto comigo! Você foi essencial e insubstituível, sem você nada disso seria realizado!

Os agradecimentos ainda são poucos diante do carinho e da admiração que sinto por você:

O meu MUITO OBRIGADA por TUDO!!! Certamente, se cheguei até aqui é por que você me ensinou e me acompanhou lado a lado....

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida e por iluminar meus passos, sempre me guiando e me mostrando o melhor caminho!

Aos meus irmãos, Hilda e Jocel que, direta ou indiretamente, caminharam junto comigo durante esses dois anos me apoiando e entendendo minhas constantes ausências. Vocês foram e são fundamentais para mim.

Aos meus pais pelo amor e apoio incondicional. Vocês sempre serão meu porto seguro e meu orgulho! Obrigada, POR TUDO!

Ao meu avô Moacir (em memória) que mesmo distante sempre se faz presente.

À professora Andreлина Noronha Coelho de Souza agradeço por todos os ensinamentos e por ter feito do seu laboratório a minha segunda casa. Por me acolher como aluna e principalmente como filha! A senhora é de fundamental importância na minha formação! Obrigada por tudo!

À minha segunda “mãe” Ana Paula Abdon, pois sem ela NADA disso seria possível. Obrigada por todos os anos de companheirismo, conversas, ensinamentos e amizade constantes. Meus agradecimentos para você nunca serão suficientes. Obrigada SEMPRE!

A três grandes amigas da faculdade e da vida: Carolina, Mirella e Gabriela que me acompanharam durante cinco anos maravilhosos e dividiram comigo as maiores angústias e medos. Especialmente à Carol que me deu total apoio sempre que precisei! A saudade de vocês só aumenta! Amo muito vocês!!!

A duas irmãs de coração, Nathália e Hêrbenya, que me ouviram atentamente sempre quando precisei e sempre me ofereceram um ombro irmão. Amo vocês!

À minha cara metade dentro do laboratório, Kalynca Kayla que chorou e vibrou comigo nos piores e melhores momentos. Seu abraço é inconfundível e não troco por nada!

A um aluno de iniciação científica que me mostrou que podemos ir bem mais além do que imaginamos e que os deslizes da vida são feitos para nos fortalecer. Ed, obrigada por todas as palavras, carinho e atenção. Você é uma pessoa abençoada!

O meu agradecimento mais que especial à FAMÍLIA LAFIEX e LAFEM!! Vocês tornam meus dias mais alegres e felizes. Não vou citar todos, mas sintam-se todos abraçados.

Um agradecimento especial a minha fiel amiga Keci, que sempre presente em todos os momentos, desde o começo estamos juntas nessa batalha diária, e por tabela a Paula, visto que ficara com raiva se não for citada. A vocês, o meu agradecimento eterno!

Ao Danton, meu IC maravilha que está sempre disposto a ajudar no que for preciso. Obrigada pelos cafés diários.

Um agradecimento especial ao meu amigo PHILLIPS, que na saúde e na doença, na alegria e na tristeza, na ansiedade e no “deboismo”, na Uece ou na UFRJ, estamos sempre juntos. Muito obrigada, meu amigo. Espero poder compartilhar muitas coisas boas juntos, agora na presença do “meninozinho”

A todos os funcionários do ISCB: Ecília, Lindalva, Frank, Pedro, Dedé e a todos os policiais que nos acompanham dia a dia.

O meu ‘obrigada’ sem tamanho aos meus QUERIDOS amigos do Rio de Janeiro: Ao Rodrigo que me acolheu como sua aluna. Poderia passar horas falando de você, mas seria impossível resumir o seu caráter, a sua gentileza e sua ética. Muito obrigada por tudo. Todo ensinamento, todas as conversas, todas as risadas. Você realmente é uma pessoa única, que Deus lhe conserve sempre assim.

À professora Denise Pires que diretamente contribuiu demais para a formação. Muito obrigada por também me acolher. Ao professor Álvaro e todos os cafezinhos de manhã.

E aos MEUS AMADOS e rabugentos amigos de laboratório Carol, Milena e Luiz. Carol que sempre reclamou, mas sempre me ajudou em TUDO. Exemplo de ser humano e profissional que passei a admirar. Muito obrigada (não chora). Morro de saudade de mim que eu sei, e morro de saudades dela. Luiz que eu sempre roubei a mesa, a comida, o livro, e sinto falta diária de fazer isso. Muito obrigada, amigo, vou levar você para sempre comigo, nunca duvide disso. E por último, não menos importante, minha todinha, companheira de aventuras. Se faz de durona mas é uma manteiga derretida. Muito, muito obrigada por você ter chegado e alegrado mais ainda o laboratório. Com certeza o que tenho de melhor no Rio de Janeiro foram vocês. Amo vocês.



Obrigada a toda família Radiobiologia Molecular. Vocês fizeram parte da minha história e serei eternamente grata

Um agradecimento especial à Tia Marcia que foi uma verdadeira mãe. Obrigada por cuidar de mim até nas pequenas atitudes. Sem dúvidas sua companhia diária alegrou meus dias no RJ e saiba que sinto sua falta constantemente. Espero poder um dia lhe retribuir tanto amor e carinho. E quem sabe um dia tenha metade do seu coração. Muito obrigada e muita saudade.

À Rafa que sempre alegrou a todos com seu sorriso contagiante. Obrigada por todos os momentos, todos os desabafos, todos os conselhos e todas as risadas. Você não sabe a importância que isso teve para mim. Levo vocês no meu coração pro resto da vida e para onde for.

À CAPES pelo auxílio financeiro para a realização dessa pesquisa

E a todos os funcionários do Instituto Superior de Ciências Biomédicas (ISCB) que se tornou minha segunda casa durante esses dois anos!!

“Eu sei que vou. Insisto na caminhada. O que não dá é pra ficar parado. Se amanhã o que eu sonhei não for bem aquilo, eu tiro um arco-íris da cartola. E refaço. Colo. Pinto e bordo. Porque a força de dentro é maior. Maior que todo o mal que existe no mundo. Maior que todos os ventos contrários. É maior porque é do bem. E nisso sim, acredito até o fim. O destino da felicidade, me foi traçado no berço.”

(Caio Fernando Abreu)

## RESUMO

A perda da homeostase redox é caracterizada pelo desequilíbrio entre agentes oxidantes e defesa antioxidante que pode estar relacionado com muitas doenças, como a obesidade. A obesidade é considerada um dos maiores problemas de saúde pública do mundo e suas consequências podem afetar homens e mulheres de maneiras distintas. O objetivo desse estudo foi avaliar o dimorfismo sexual na homeostase redox em tecido adiposo de ratos com obesidade induzida por dieta hiperlipídica. Os animais foram divididos em 4 grupos: controle machos (CM), machos tratados com dieta hiperlipídica (HLM), controle fêmeas (CF) e fêmeas tratadas com dieta hiperlipídica (HLF). Os animais controle receberam ração balanceada padrão e os animais tratados receberam uma dieta rica em gordura (57%) durante 11 semanas. Peso do animal e consumo de ração foram medidos semanalmente. Após 16 semanas de vida os animais foram anestesiados, sacrificados e retirados os tecidos adiposos subcutâneo (SC), retroperitoneal (RP) e perigonadal (PG). Foram medidos peso, eficiência alimentar, peso dos coxins, diâmetro dos adipócitos, ganho de peso e consumo diário de ração desses animais. No dia do sacrifício foi realizado geração extracelular de ERO pelo método Amplex Red, em adipócitos isolados (SC e RP). Os tecidos adiposos foram guardados para análises de geração intracelular de ERO (SC e RP), análises de citocinas inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ ) (SC), expressão gênica das NADPH oxidases (NOX e DUOX) (SC) e análises das enzimas antioxidantes (SOD, GPx e catalase) (SC). Ao final do tratamento com dieta hiperlipídica, o peso corporal dos coxins SC, RP e PG, consumo diário de ração e ganho de peso foram significativamente maiores no grupo HLM em relação ao grupo CM. Entretanto, o diâmetro do adipócito foi maior nos grupos HLM e HLF em relação ao controle, sugerindo um possível aumento na adiposidade em ambos os sexos. A geração de espécies reativas extracelular em adipócitos isolados apresentou-se aumentada no tecido SC no grupo HLM. Por outro lado no tecido RP não houve diferenças significativas. O mesmo ocorreu na geração dependente de NADPH oxidase onde houve diferenças entre os grupos (nas diferentes frações subcelulares) somente no tecido SC. Os animais machos tratados com dieta

hiperlipídica apresentaram uma redução na atividade das enzimas antioxidantes (SOD e GPx) comparados aos seus controles. Além disso, o tratamento com a dieta aumentou os níveis das citocinas inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$ ) somente nos animais machos. Em relação à expressão gênica das NADPH oxidases, foi observado que os machos tratados com a dieta aumentaram os níveis de mRNA de NOX 3 e NOX 4 em relação ao grupo CM e HLF. Por fim, vimos que os níveis de mRNA de DUOX 1 e DUOX A1 também foi maior no grupo HLM em relação ao grupo HLF. Em conclusão, observamos que a dieta hiperlipídica gera uma perda na homeostase redox e existe um dimorfismo sexual quando avaliado a adiposidade, geração de ERO, perfil inflamatório e defesa antioxidante. Nosso estudo mostrou que os animais macho apresentaram um desequilíbrio redox e caráter inflamatório mais evidente do que as fêmeas.

**Palavras-chaves:** Obesidade. Dimorfismo sexual. Estresse oxidativo

## ABSTRACT

The loss of redox homeostasis by the imbalance between oxidant agents and anti-oxidant defense that might relate to many diseases, such as obesity. Obesity is considered one of the world's biggest public health issues and its consequences may affect men and women in distinct ways. This study's purpose was to evaluate the sexual dimorphism in the adipose tissue's redox homeostasis of high fat diet induced obese rats. The animals were divided in 4 groups: control male (CM), high fat diet treated male (HFM), control female (CF) and high fat diet treated female (HFF). Control animals were given standard balanced ration and treated animals were given a high fat diet (57% fat) for 11 weeks. Animals' weight and ration consume were weekly measured. After 16 weeks of life, they were anesthetized, euthanized and had their subcutaneous (SC), retroperitoneal (RP) and perigonial (PG) adipose tissues removed. Weight, alimentary efficiency, cushions weight, adiposities diameters, weight gaining and ration daily consume were measured. Amplex Red method ROS extracellular generation was made at the sacrifices day in isolated adiposities (SP and RP). The adipose tissues were saved for ROS intracellular generation (SC e RP), inflammatory cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ ) (SC), NADPH oxidizes (NOX e DUOX) genes expression (SC) and anti-oxidizes enzymes (SOD, GPx and Catalase) (SC) analysis. By the end of the high fat treatment, body weight, SC, RP and PG cushions weight, daily ration consume and weight gain were significantly higher for HFM group in comparison to CM group. However, adiposities diameter were larger for the HFM and HFF in comparison to control group, what suggests a potential increase in both gender adiposity. The generation of extracellular reactive species in isolated adipocytes showed to be increased in the SC tissue for HFM. On the other hand, there weren't significant differences in the RP tissue. Same thing happened to the NADPH-dependent oxidize generation, whose differences between groups (for distinct sub cellular fractions) were showed only in the SC tissue. High fat-treated animals showed a decrease in the antioxidant (SOD and GPx) when compared to their control. Besides, high fat treatment increased inflammatory cytokines levels (TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-1 $\beta$ ) only for male animals. Regarding to NADPH oxidizes genes expression, it was observed that high fat diet-treated male animals had their NOX 3 and NOX4 mRNA increased in comparison to CM

and HFF. Lastly, we saw that DUOX1 and DUOX A1 mRNA levels were higher in the HFM group compared to HFF. In conclusion, we noted that high fat diet induces loss in the homeostasis redox and that there is a sexual dimorphism when adiposity, ROS generation, inflammatory profile and anti-oxidant defenses were taken into analysis. Our research showed that male animals had a redox imbalance and an inflammatory feature more evident than female's.

**Keywords:** Obesity. Sexual dimorphism. Oxidative Stress.