

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ENGENHARIA DE
PRODUÇÃO
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM BIOINFORMÁTICA

INGRID FELICIDADE

PAPEL DOS miRNAs NO TECIDO ADIPOSEO NORMAL E
OBESO: REVISÃO DA LITERATURA

MONOGRAFIA DE ESPECIALIZAÇÃO

LONDRINA
2016

INGRID FELICIDADE

**PAPEL DOS miRNAs NO TECIDO ADIPOSEO NORMAL E
OBESO: REVISÃO DA LITERATURA**

Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Bioinformática da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista.

LONDRINA

2016

INGRID FELICIDADE

**PAPEL DOS miRNAS NO TECIDO ADIPOSEO NORMAL E
OBESO: REVISÃO DA LITERATURA**

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Rossi Paschoal
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Douglas Silva Domingues
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Alessandro Botelho Bovo
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

LONDRINA
2016

RESUMO

A prevalência mundial de obesidade mais que dobrou entre 1980 e 2014, onde mais de 1,9 bilhões de adultos, com 18 anos ou mais, estão sobrepeso, e mais de 600 milhões desses são obesos. No Brasil, de acordo com as últimas pesquisas, em 2014, 52,5% dos brasileiros são sobrepesos, enquanto 17,9% são obesos. Obesidade é o maior fator de risco para doenças não-transmissíveis, como patologias cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2, hipertensão e câncer. Indivíduos obesos metabolicamente saudáveis tendem a apresentar um quadro de obesidade hiperplásica, o que garante a integridade da função do tecido adiposo, e tem-se demonstrado ser a chave para a manutenção da homeostase corporal em casos de desequilíbrio no metabolismo energético, como obesidade. Dessa forma, o estudo da adipogênese e de fatores que podem influenciar nessas fases de proliferação e diferenciação, são de extrema relevância no contexto da obesidade e patologias associadas. MicroRNAs (miRNAs) são um dos fatores que têm demonstrado ter um papel essencial na adipogênese e na regulação de funções metabólicas e endócrinas do tecido adiposo. Ademais, o quadro de obesidade demonstra influenciar a expressão de miRNAs no tecido adiposo, apesar do pouco número de validação experimental em humanos. Portanto, a presente revisão apresenta, a partir de dados da literatura, a influência de miRNAs na adipogênese, acrescido da influência da obesidade.

Palavras-chave: Adipogênese; miRNA; ncRNA; Obesidade.

ABSTRACT

The worldwide prevalence of obesity has more than doubled between 1980 and 2014, where more than 1.9 billion adults, 18 years or older, are overweight and more than 600 million of these are obese. In Brazil, according to the latest research, in 2014, 52.5% of Brazilians are overweight, while 17.9% are obese. Obesity is a major risk factor for noncommunicable diseases such as cardiovascular diseases, type 2 diabetes mellitus, hypertension and cancer. Metabolic healthy obese subjects tend to have hyperplastic obesity frame, which ensures the integrity of adipose tissue function and has been shown to be a key to maintaining body homeostasis in cases of imbalance in energy metabolism, *e.g.* obesity. Thus, the study of adipogenesis and factors that may influence these phases of proliferation and differentiation, are very important in the context of obesity and associated diseases. MicroRNAs (miRNAs) are one of the factors that have been shown to have an essential role in adipogenesis and in the regulation of metabolic and endocrine functions of adipose tissue. Moreover, obesity shows influence the expression of miRNAs in adipose tissue, despite the small number of experimental validation in humans. Therefore, this review shows, from the literature, the influence of miRNAs on adipogenesis, in addition to the influence of obesity.

Keywords: Adipogenesis; miRNA; ncRNA; Obesity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Determinação e diferenciação de adipócitos.....	11
Figura 2 – Cascata transcricional da diferenciação dos adipócitos	13
Figura 3 – Modelo representativo do papel dos genes <i>C/EBPα</i> e <i>PPARγ</i> na adipogênese.....	14
Figura 4 – Fases da adipogênese	15
Figura 5 – Biogênese de miRNAs em mamíferos.....	20
Figura 6 – miRNAs e alvos que contribuem para a adipogênese em humanos ..	24

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	07
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	09
2.1 Obesidade	09
2.2 Adipogênese	10
2.2.1 Proliferação de pré-adipócitos	12
2.2.2 Diferenciação	13
2.3 Modelos para estudo em tecido adiposo	15
2.3.1 Modelos experimentais <i>in vitro</i>	17
2.3.1.1 Modelos em ratos	17
2.3.1.2 Modelos em humanos	18
<u>2.3.1.2.1 Pré-adipócitos humanos SGBS (síndrome de</u> <u>Simpson-Golabi-Behmel)</u>	18
2.4 RNA NÃO-CODIFICANTE	19
2.4.1 miRNAs	19
3 OBJETIVOS	22
3.1 Geral	22
3.2 Específicos	22
4 METODOLOGIA	23
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS	29

INTRODUÇÃO

De acordo com a World Health Organization (WHO), obesidade é um excesso de gordura que pode debilitar a saúde, sendo definida e classificada através do índice de massa corporal (IMC) $\geq 30,0$ Kg/m², enquanto que sobrepeso é definido como BMI $\geq 25,0$. A prevalência mundial de obesidade mais que dobrou entre 1980 e 2014, onde mais de 1,9 bilhões de adultos, com 18 anos ou mais, estão sobrepeso, e mais de 600 milhões desses são obesos (WHO, 2015).

No Brasil, de acordo com o último inquérito do Vigitel (Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico) em 2014, 52,5% dos brasileiros são sobrepesos, enquanto 17,9% são obesos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Além disso, dados do Sistema Único de Saúde (SUS), reportaram terem gasto R\$ 488 milhões no tratamento e atendimento de pacientes obesos ou com patologias associadas em 2008, período o qual 45% da população apresentava sobrepeso e 13,7% estavam obesos (SNA, 2013).

Obesidade é o maior fator de risco para doenças não-transmissíveis, como patologias cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2, hipertensão e câncer (VIDAL-PUIG, 2013; ALLOT & HURSTING, 2015; WHO, 2015). No Brasil, essas doenças causaram 72% das mortes em 2014 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Resistência à insulina é a maior alteração metabólica resultante da obesidade, seguida por uma inflamação de baixo grau no tecido adiposo, que rapidamente se torna sistêmica, diminuindo a sensibilidade a insulina enquanto aumenta a taxa de lipólise (GREGOR & HOTAMISLIGIL, 2011; LAFONTAN, 2014; RUTKOWSKI et al., 2015). Esse desequilíbrio também propicia o armazenamento ectópico de gordura, promovendo lipotoxicidade e estresse que induzem disfunção celular de acordo com o tipo célula afetado, como doença hepática gordurosa não alcoólica (NAFLD) e falha na função de células β -pancreáticas (VIDAL-PUIG, 2013).

Indivíduos obesos metabolicamente saudáveis tendem a apresentar um quadro de obesidade hiperplásica, que garante a integridade da função do tecido adiposo, o que tem demonstrado ser a chave para a manutenção da homeostase corporal em casos de desequilíbrio no metabolismo energético, como obesidade.

Dessa forma, o estudo da adipogênese e de fatores que podem influenciar nessas fases de proliferação e diferenciação, são de extrema relevância no contexto da obesidade e patologias associadas.

MicroRNAs (miRNAs) são um dos fatores que têm demonstrado ter um papel essencial na adipogênese e na regulação de funções metabólicas e endócrinas do tecido adiposo (ARNER & KULYTÉ, 2015). Ademais, o quadro de obesidade demonstra influenciar a expressão de miRNAs no tecido adiposo, apesar do pouco número de validação experimental em humanos.

Portanto, a presente revisão apresenta, a partir de dados da literatura, a influência de miRNAs na adipogênese, acrescido da influência da obesidade.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Obesidade

Obesidade é o resultado do desequilíbrio entre ingestão e gasto energético (BILLION et al., 2008), sendo esse um dos principais fatores de risco para doenças crônicas não-transmissíveis, como doenças cardiovasculares, *diabetes mellitus* tipo 2 (T2DM), hipertensão e câncer (VIDAL-PUIG, 2013; ALLOTT & HURSTING, 2015; WHO, 2015). A resistência à insulina é a maior consequência da obesidade, seguida pela inflamação de baixo grau, no tecido adiposo, que rapidamente se tornam sistêmica e diminuem a sinalização da insulina enquanto aumentam a taxa de lipólise (GREGOR & HOTAMISLIGIL, 2011; LAFONTAN, 2014; RUTKOWSKI et al., 2015). Esse desequilíbrio é também aumentado pelo armazenamento ectópico de gordura com consequente promoção da lipotoxicidade e estresse oxidativo que conduzem à uma disfunção celular, de acordo com o tipo celular afetado, como doença hepática gordurosa não-alcoólica (NAFLD) e disfunção em células β -pancreáticas (VIDAL-PUIG, 2013; LAFONTAN, 2014).

Associada à resistência insulínica e obesidade, NAFLD e inflamação podem ser prevenidas pela expansão do tecido adiposo, pela proliferação de pré-adipócitos, relacionada com o aumento do metabolismo energético (RUTKOWSKI et al., 2015). Recentemente, tem sido demonstrado que a resistência à insulina, em indivíduos metabolicamente não-saudáveis e lipodistróficos, é causada pela incapacidade de expansão do tecido adiposo (VIRTUE & VIDAL-PUIG, 2008). Embora a redução de tecido adiposo e da ação da insulina pareçam prevenir o ganho de peso adicional em pessoas obesas, com problemas para controle do apetite e de regularidade em exercícios físicos, estudos demonstram que a hipótese da expansão do tecido adiposo é capaz de manter a homeostase metabólica nesses indivíduos evitando, dessa forma, o ciclo vicioso causado pelo T2DM e a resistência à insulina em indivíduos obesos (VIRTUE & VIDAL-PUIG, 2008; VIDAL-PUIG, 2013; LAFONTAN, 2014).

Além disso, enquanto a energia excedente persiste e a capacidade de armazenamento do tecido adiposo é capaz de estocar continuamente o excesso

de energia e lipídios, a homeostase metabólica e cardiovascular pode ser preservada, apesar da obesidade, sendo que o sequestro de ácidos graxos, na forma de triglicerídeos, pelos adipócitos, previne a lipotoxicidade (LAFONTAN, 2014).

No âmbito celular, obesidade é originalmente considerada uma doença hipertrófica resultante de um aumento no número ou tamanho de células do tecido adiposo (MORENO-NAVARRETE & FERNÁNDEZ-REAL, 2012). Em relação ao tecido adiposo, sabe-se que o aumento celular dos adipócitos pré-existent (hipertrofia) e a diferenciação de novos pré-adipócitos e adipócitos maduros (hiperplasia), são necessários para a expansão do tecido, observada na obesidade e durante o desenvolvimento do organismo (ALVAREZ et al., 2014).

2.2 Adipogênese

O tecido adiposo é caracterizado por acentuada heterogeneidade celular sendo encontrado entre os componentes celulares: pré-adipócitos, adipócitos, fibroblastos, células endoteliais e células tronco multipotentes, que são capazes de se diferenciarem em diversos tipos celulares. De maneira geral, o tecido adiposo consiste em aproximadamente 1/3 de adipócitos maduros, sendo o restante dividido entre pequenas células tronco mesenquimais (MSCs), células T regulatórias, células endoteliais precursoras, pré-adipócitos, em vários estágios de desenvolvimento, e macrófagos que conferem, dessa forma, ao tecido uma constante plasticidade funcional, a qual determina sua habilidade de expansão no decorrer da vida (MORENO-NAVARRETE & FERNÁNDEZ-REAL, 2012).

Há dois tipos de tecido adiposo, branco (WAT, *white adipose tissue*) e marrom (BAT, *brown adipose tissue*), diferindo em algumas características significativas. O tecido adiposo branco contém grandes vacúolos de lipídios individuais que compreendem a maioria do volume celular, enquanto o citoplasma e o núcleo são encontrados na periferia celular. Ainda, os pré-adipócitos, que possuem morfologia semelhante à de fibroblastos, podem ser cultivados *in vitro* e, posteriormente, induzidos a diferenciação para o estudo da adipogênese e de seus metabólitos. Já o tecido adiposo marrom, o qual é

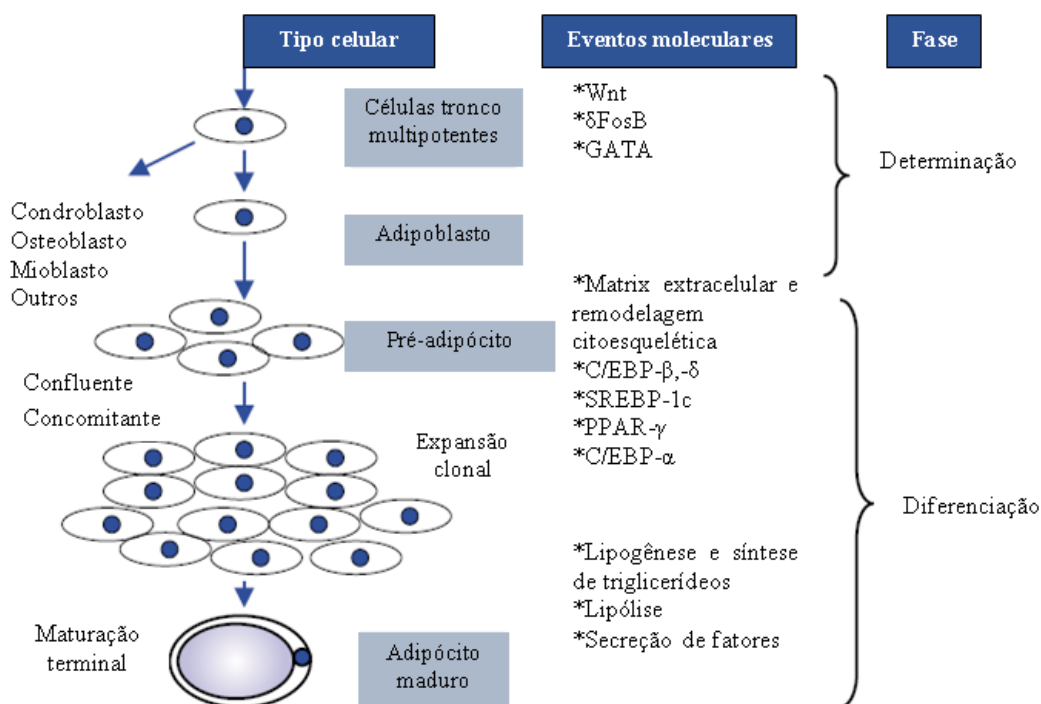
caracterizado por vacúolos de lipídios multiloculares e acentuada presença de mitocôndrias, são derivados a partir de distintos depósitos de tecido adiposo que são altamente vascularizados e inervados (BILLION et al., 2008; MORENO-NAVARRETE & FERNÁNDEZ-REAL, 2012).

Duas fases da adipogênese têm sido extensivamente caracterizadas (Figura 1):

i) fase determinante: estágio resultante da conversão de células tronco em pré-adipócitos, o que não pode ser diferenciado morfologicamente de seus precursores celulares, no entanto, perdem o potencial de diferenciação em outros tipos celulares.

ii) fase de determinação terminal ou diferenciação: nesse estágio, os pré-adipócitos assumem características de um adipócito maduro, adquirindo os mecanismos necessários para a síntese e transporte de lipídios, ação da insulina e secreção de proteínas específicas. A regulação terminal da diferenciação é mais extensivamente caracterizada do que a determinação, já que a maioria dos estudos têm usado linhagens celulares que possuem um potencial restrito de diferenciação em outros tipos celulares (BILLION et al., 2008; MORENO-NAVARRETE & FERNÁNDEZ-REAL, 2012).

Figura 1 – Determinação e diferenciação de adipócitos.



Fonte: Fève, 2005.

Mecanismos moleculares que controlam a conversão de pré-adipócitos em adipócitos maduros têm recebido muita atenção nas últimas décadas, devido ao aumento da prevalência de obesidade e comorbidades associadas (SIERSBÆK et al., 2012). A adipogênese é controlada por uma rígida cascata de regulação transcricional, onde fatores de transcrição ativam ou reprimem a expressão de cada gene de maneira sequencial (SIERSBÆK et al., 2012).

A transição, a partir do óvulo, para a determinação e conversão de células precursoras dos adipócitos, em adipócitos maduros, ocorre através de uma série de estágios. Um único óvulo fertilizado dá origem a cerca de 200 tipos de células que compõem as várias linhagens de desenvolvimento e organismos multicelulares. Os fibroblastos pluripotentes (células tronco) são conhecidos por terem origem mesodermal e podem diferenciar-se em pré-adipócitos, cartilagens, osso ou tecido muscular (NTAMBI & KIM, 2000). Durante o processo de diferenciação terminal, o pré-adipócito sofre mudanças na morfologia, na expressão bioquímica e nas funções celulares para se tornar um adipócito maduro, o qual é capaz de transportar e sintetizar lipídios, responder metabolicamente à insulina e secretar proteínas específicas dos adipócitos (WOOD, 2008). Em 1994, a identificação da leptina estabeleceu definitivamente o tecido adiposo como um órgão endócrino (ZHANG et al., 1994). Desde então, descobriu-se inúmeros compostos bioativos, a maioria deles agindo como hormônios (LAFONTAN, 2005).

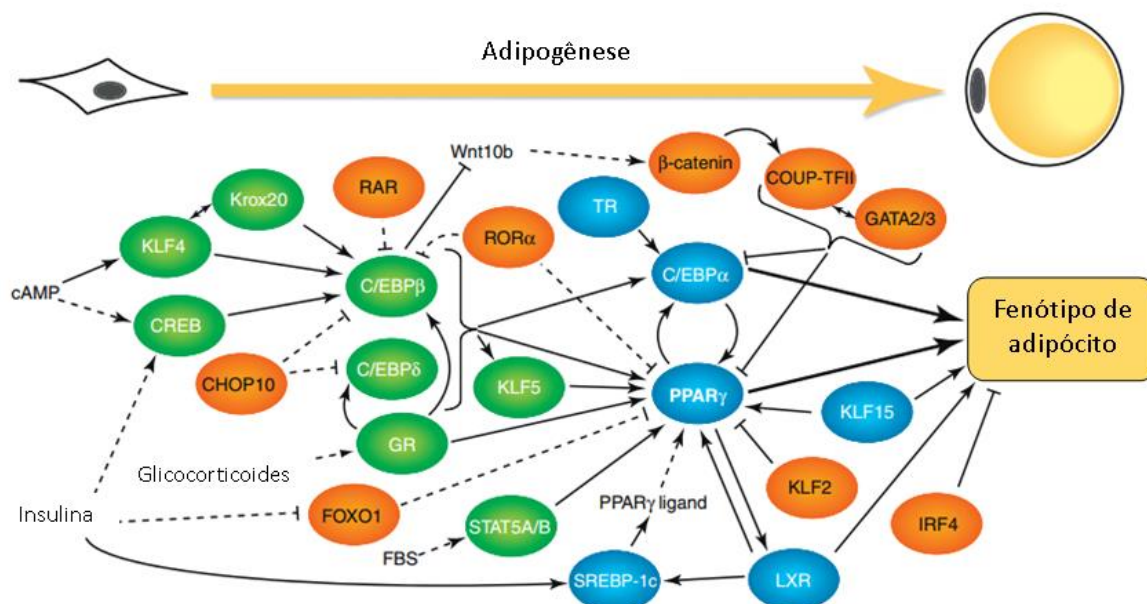
2.2.1 Proliferação de pré-adipócitos

Pré-adipócitos humanos são células do tipo fibroblastos e consistem em 15-50% das células do tecido adiposo (WABITSCH et al., 2001; TCHKONIA et al., 2010; ALI et al., 2013). O principal papel dos pré-adipócitos é diferenciar-se em adipócitos maduros funcionais, melhorando a sensibilidade à insulina e evitando o depósito de gordura ectópica, o qual está relacionado com resistência à insulina, síndrome metabólica e doenças cardiovasculares (ZAMBONI et al., 2014). A proliferação de pré-adipócitos tem sido reportada como protetiva, por aumentar a capacidade de expansão do tecido adiposo e favorecer a renovação celular, melhorando a sensibilidade a insulina.

2.2.2 Diferenciação

A diferenciação dos adipócitos segue um programa bem definido. De acordo com o modelo atualmente aceito, o programa adipogênico envolve inúmeros estágios sequenciais ao longo de 4-7 dias (KONG & LI, 2006). Sob indução de agentes pró-diferenciação, as células sofrem crescimentos através de 1 ou 2 etapas de divisão celular, conhecidas como expansão mitótica clonal, a qual é acompanhada por uma expressão gênica em cascata, inicializada pela expressão dos genes *C/EBP β* (proteína ligante do amplificador CCAAT beta) e *C/EBP δ* (proteína ligante do amplificador CCAAT delta). Esses primeiros eventos são, então, seguidos por um aumento na expressão dos genes *C/EBP α* (proteína ligante do amplificador CCAAT alfa) e *PPAR γ* (receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama), reguladores centrais da transcrição na adipogênese, os quais ativam a expressão de genes específicos para esse processo. Subsequentemente, no estágio final, as células são terminalmente diferenciadas em adipócitos maduros (KONG & LI, 2006) (Figura 2).

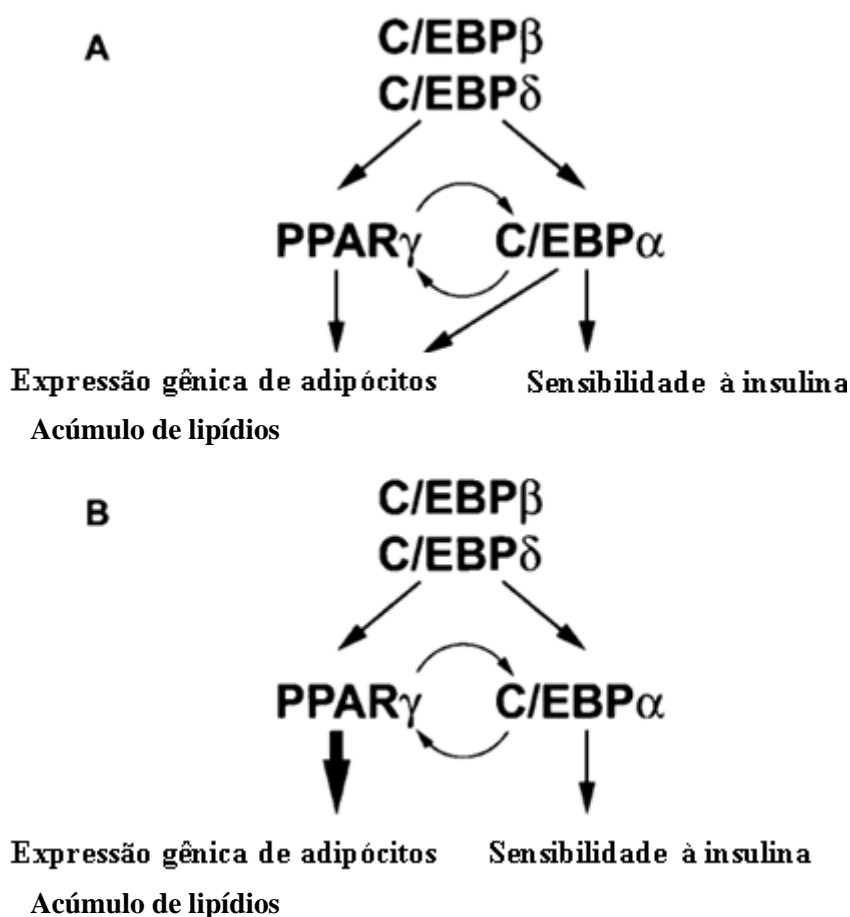
Figura 2 – Cascata transcrricional da diferenciação dos adipócitos.



Fatores de transcrição adipogênicos iniciais (verde) são ativados diretamente pelo coquetel hormonal adipogênico e induzem fatores adipogênicos tardios (azul). Fatores anti-adipogênicos são demonstrados em laranja. Linhas sólidas indicam regulação da expressão gênica e linhas pontilhadas indicam regulação da atividade. Fonte: Siersbæk et al., 2012.

Rosen et al. (2002), demonstraram dois modelos sobre o papel dos genes *C/EBP α* e *PPAR γ* na adipogênese. A Figura 3A mostra como os genes *PPAR γ* e *C/EBP α* induzem a expressão um do outro e podem agir independentemente na promoção da diferenciação de adipócitos; já a Figura 3B apresenta um modelo alternativo onde o gene *PPAR γ* é o regulador direto da adipogênese, enquanto o gene *C/EBP α* , possui um papel central na manutenção da expressão do gene *PPAR γ* e na promoção da sensibilidade a insulina.

Figura 3 – Modelo representativo do papel dos genes *C/EBP α* e *PPAR γ* na adipogênese



Fonte: ROSEN et al., 2002

O *PPAR γ* é tanto suficiente quanto necessário para a conversão de pré-adipócitos em adipócitos, sendo conhecido como regulador mestre da adipogênese. Os receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (*PPAR*) são membros de uma família de receptores nucleares e agem como fatores de

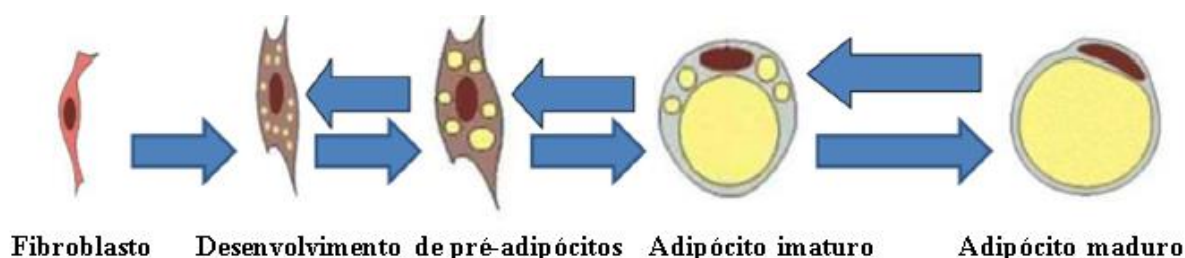
transcrição formando um heterodímero com o receptor do retinóide X (*RXR*). O heterodímero *PPAR-RXR* se liga aos elementos de resposta do *PPAR* (PPRE) na região promotora de genes responsivos ao *PPAR* (HEINÄNIEMI et al., 2007; WOOD, 2008). Já os sítios de ligação do gene *C/EBP α* são encontrados na região promotora de diversos genes que ativam a adipogênese (WU et al., 1999).

Concomitantemente à expressão gênica em cascata, descrita acima, há, também, o aumento da expressão do gene receptor da vitamina D (*VDR*), durante a diferenciação. Essa curta disponibilidade do gene *VDR* possibilita a influência da vitamina D no processo de diferenciação dos pré-adipócitos em adipócitos (WOOD, 2008).

2.3 Modelos para estudo em tecido adiposo

O estudo da adipogênese, especialmente a diferenciação, tem sido amplamente realizado nos últimos 40 anos, especialmente em modelos de pré-adipócitos *in vitro* desenvolvidos para estudar características dos adipócitos e tecido adiposo (ALI et al., 2013). Como já demonstrado, o processo envolve seis estágios bem definidos: precursores mesenquimais, pré-adipócitos concomitantes, parada de crescimento em pré-adipócitos, expansão mitótica clonal, diferenciação terminal e adipócitos maduros. Todos os processos são passíveis de estudos *in vitro*, de acordo com a fase celular da adipogênese (Figura 4).

Figura 4 – Fases da adipogênese



As setas reversas demonstram a habilidade do adipócito maduro retroceder quando a oferta de energia diminui. Fonte: Ali et al., 2013.

Estudos da adipogênese *in vivo* são difíceis, devido aos diversos componentes celulares compondo, aproximadamente, 70% e 50% do tecido

adiposo, humano e animal respectivamente, como pequenas veias sanguíneas, tecido nervoso, fibroblastos e pré-adipócitos, em diversos estágios de desenvolvimento (CORNELIUS et al., 1994). Além disso, a dificuldade de distinção entre pré-adipócitos e fibroblastos, e a inabilidade em manter os pré-adipócitos em estágios de desenvolvimento similares, podem confundir os resultados de estudos *in vivo* (ALI et al., 2013). Dessa forma, estudos *in vitro*, ainda são preferíveis para o estudo dos processos da adipogênese, assim como das fases celular.

Experimentos *in vitro*, especialmente em linhagens celulares de ratos e camundongos, têm sido usados para descrever a cascata transcricional de diferenciação de pré-adipócitos (ROSEN et al., 2000). Apesar das vantagens desses modelos, que incluem i) a homogeneidade da população celular, permitindo respostas definitivas ao tratamento, e ii) elevada capacidade de proliferação celular dos pré-adipócitos, os eventos moleculares da adipogênese em linhagens celulares de ratos e camundongos podem não refletir o que ocorre em pré-adipócitos humanos (ALI et al., 2013). Por isso, surgiram estudos em culturas primárias de pré-adipócitos humanos. No entanto, embora estudos tenham conseguido grandes avanços, esses modelos ainda apresentam alguns problemas, como i) dificuldade de isolamento adequado dos pré-adipócitos, ii) baixa porcentagem de pré-adipócitos no tecido adiposo total, e iii) limitada capacidade de proliferação e curto tempo de vida em cultura celular (NTAMBI & YOUNG, 2000; ALI et al., 2013).

Como alternativa, em humanos, em 2001, Wabitsch e colaboradores, apresentaram um estudo onde isolaram células de pré-adipócitos do tecido adiposo branco subcutâneo de um paciente com síndrome de Simpson-Golabi-Behmel (SGBS), uma rara desordem ligada ao cromossomo X e caracterizada pelo elevado crescimento celular pré- e pós-natal (MIM 312870). A linhagem celular finita (*cell strain*) estabelecida, exibe elevada capacidade de diferenciação, resultando em células de tecido adiposo maduras bioquímica e funcionalmente similares à adipócitos humanos. Apesar de manter o elevado potencial de diferenciação em adipócitos, células SGBS não são imortalizadas e após, aproximadamente, 70 gerações elas perdem a capacidade proliferativa e, finalmente, morrem (WABITSCH et al., 2001). No entanto, pré-adipócitos SGBS

são uma excelente alternativa celular para estudar eventos adipogênicos em humanos.

2.3.1 Modelos experimentais *in vitro*

Dois diferentes tipos de linhagens celulares estão atualmente disponíveis: pré-adipócitos e células tronco multipotentes, que possuem a habilidade de diferenciar-se em tecido adiposo, ósseo e muscular (MORENO-NAVARRETE & FERNÁNDEZ-REAL, 2012).

2.3.1.1 Modelos em ratos

As mais frequentes linhagens celulares usadas como modelos para o estudo da adipogênese em ratos são 3T3-F442A e 3T3-L1, isoladas da linhagem celular Swiss 3T3, resultante de embriões de ratos Swiss 3T3 de 17-19 dias de idade, sendo a linhagem 3T3-F442A um modelo com células em fases mais avançadas no processo de diferenciação do que a linhagem 3T3-L1 (GREEN & MEUTH, 1974; GREEN & KEHINDE, 1976; GREGOIRE et al., 1998). O estabelecimento dessas linhagens como modelos clássicos para o estudo da adipogênese é resultado da homogeneidade da população celular, especialmente no que tange o estágio de diferenciação, o que permite resultados homogêneos e reprodutíveis dos tratamentos (MORENO-NAVARRETE & FERNÁNDEZ-REAL, 2012).

Além dessas linhagens de pré-adipócitos, há a linhagem celular Ob17. No entanto, esses pré-adipócitos encontram-se em um estágio tardio e, por isso, são usados com uma menor frequência (MORENO-NAVARRETE & FERNÁNDEZ-REAL, 2012). Células Ob17 são derivadas do tecido adiposo do epidídimo de ratos adultos geneticamente obesos (Ob/Ob) e, por isso, podem conferir diferentes padrões de expressão gênica e metabólitos.

Em ratos, células C3H101/2, estabelecidas em 1973, são células tronco mesenquimais (MSCs) de embriões de ratos C3H de 14-17 dias de idade que, após tratamento com BMP4, são induzidas à linhagem adipocitária e podem ser diferenciadas em adipócitos após indução por indutores específicos (MORENO-NAVARRETE & FERNÁNDEZ-REAL, 2012). Ainda, nessa classe, encontram-se

as células tronco derivadas do tecido adiposo (ADSCs), similares à MSCs mas, mais simples de serem purificadas e facilmente obtidas.

2.3.1.2 Modelos em humanos

Tentativas recentes de obtenção de linhagens celulares de pré-adipócitos humanos tem tido significativos avanços nos últimos anos, uma vez que dois tipos celulares foram descritos: pré-adipócitos derivados de lipossarcoma e pré-adipócitos de uma criança com síndrome de Simpson-Golabi-Behmel (WABITSCH et al., 2000; WABITSCH et al., 2001; FEVÈ, 2005). Pré-adipócitos derivados de lipossarcoma resultaram na linhagem celular LiSa-2 que é capaz de manter o potencial de diferenciação em adipócitos, após indução específica, com inúmeras características fenotípicas, bioquímicas e funcionais de células de adipócitos maduros, apesar das consideráveis alterações genéticas (WABITSCH et al., 2000). Por sua vez, o conhecimento adquirido com a linhagem celular humana LiSa-2 resultou no estabelecimento da linhagem celular finita SGBS, que apresenta todas as características de uma cultura de pré-adipócitos primária, como descrito (WABITSCH et al., 2001).

Similarmente aos modelos de ratos, MSCs e ADSCs também podem ser isoladas em humanos e, embora o curto tempo de vida em cultura celular, refletem a funcionalidade do tecido *in vivo* e podem ser diferenciadas em adipócitos maduros, *in vitro* (MORENO-NAVARRETE & FERNÁNDEZ-REAL, 2012).

2.3.1.2.1 Pré-adipócitos humanos SGBS (síndrome de Simpson-Golabi-Behmel)

Pré-adipócitos humanos SGBS foram isolados de um paciente com síndrome de Simpson-Golabi-Behmel (SGBS), como descrito acima. A alteração molecular causadora dessa síndrome não é ainda completamente entendida, embora mutações no gene glicican 3 (*GPC3*), envolvido no controle de crescimento, tem sido associado com a síndrome em alguns pacientes, o que não foi o caso do paciente o qual as células foram isoladas (WABITSCH et al., 2001).

Ao se comparar células de pré-adipócitos SGBS com pré-adipócitos primários de pacientes controle, observou-se que células SGBS mantinham o potencial de diferenciação em adipócitos por, pelo menos, 70 gerações, com expressão de genes específicos à adipócitos, como genes transportadores da glicose (*GLUT*), e características funcionais de células adiposas (lipogênese e lipólise) durante as gerações, justificando o uso dessas células para o estudo da adipogênese em humanos, *in vitro* (WABITSCH et al., 2001).

2.4 RNA NÃO-CODIFICANTE

RNAs não-codificantes (do inglês *non-coding RNAs* ou, ainda, pela sigla ncRNAs) são RNAs funcionais que despertam um grande interesse pelo seu papel regulatório, possuindo um papel ativo nas células, embora não codifiquem proteínas (PASCHOAL et al., 2012). São divididos entre longos (long ncRNAs) e pequenos (small ncRNAs). Sendo os *small ncRNAs* ainda divididos em outras classes, sendo as mais conhecidas: miRNA (microRNA), siRNA (small interfering RNAs) e piRNAs (piwi-interacting RNAs).

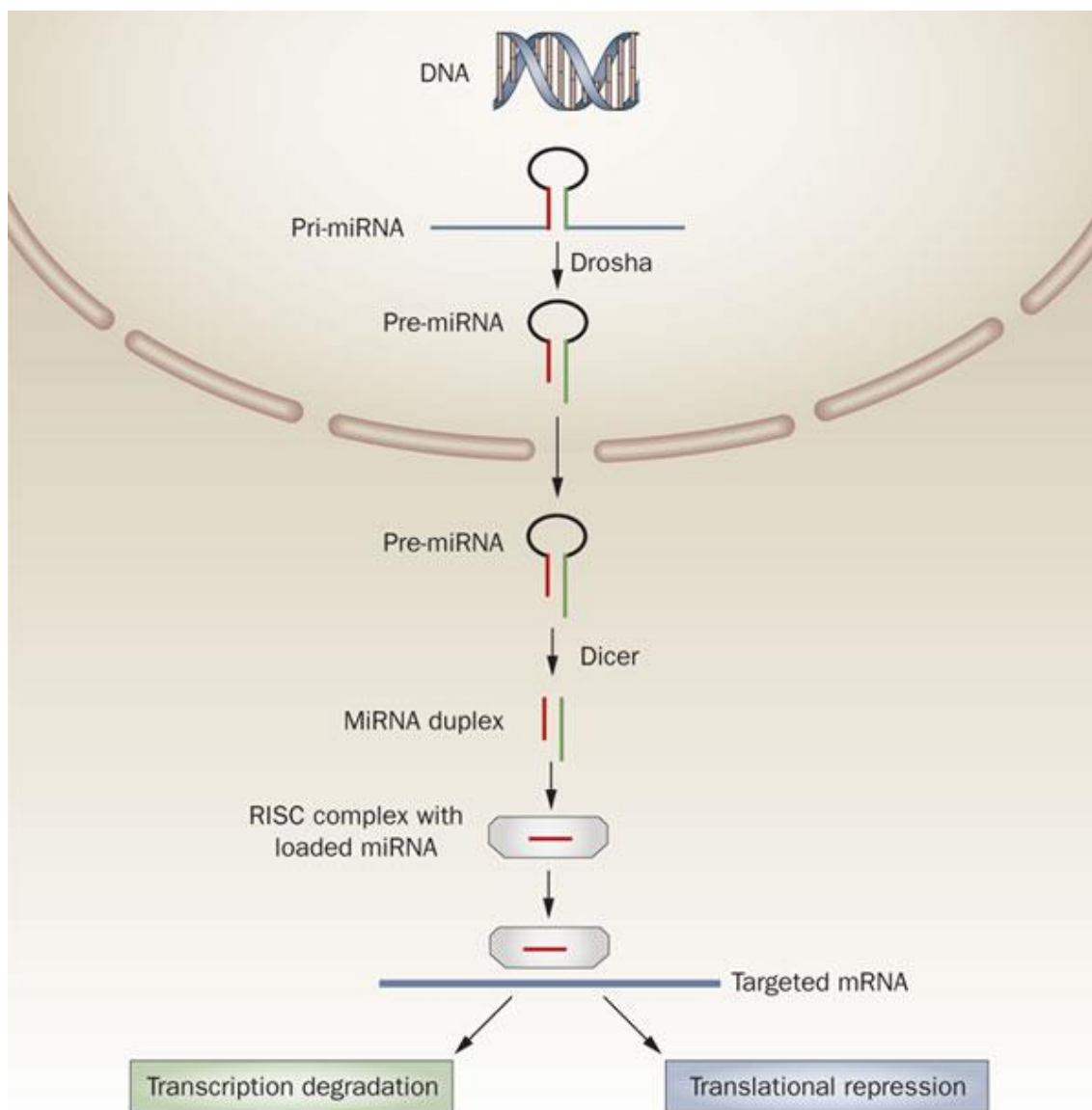
2.4.1 miRNAs

MicroRNAs (miRNAs) são moléculas que possuem ação pós-transcricional na regulação de expressão gênica e proteica (ARNER & KULYTÉ, 2015). São evolutivamente conservados, 20-24 nucleotídeos de RNA, e codificados por seus próprios genes ou íntrons (ARNER & KULYTÉ, 2015). Baseados em predições por algoritmos, estima-se que miRNAs regulam entre 30 e 90% das proteínas codificadas por genes, além de sua associação com diferentes doenças, como autoimunes, cardiovasculares, neurodegenerativas, metabólicas e câncer (SCHMITZ et al., 2015).

miRNAs são processados (Figura 5) a partir de miRNA precursores no núcleo pela *Drosha* (também conhecida como RNA endonuclease – polimerase – tipo III) e, posteriormente, no citosol pela endonuclease *Dicer* (conhecida como RNA endonuclease tipo II), em miRNAs de, aproximadamente, 22 nucleotídeos. Uma fita de miRNA é incorporada em um complexo de nucleases multiproteico (complexo indutor de silenciamento de RNA). Dependendo da

complementaridade da sequência de miRNA alvo, genes podem ser regulados tanto pela clivagem do mRNA ou pela inibição da tradução proteica. Ainda, miRNAs contém uma sequência (posição 2-8 a partir do 5' terminal) que hibridiza com a região 3' não traduzida do mRNA alvo (ARNER & KULYTÉ, 2015).

Figura 5 – Biogênese de miRNAs em mamíferos



O primeiro passo envolve a reação de pri-miRNAs, usualmente transcritos pela RNA polimerase II. Pri-miRNAs são clivados no núcleo em pre-miRNAs *hairpin* (tipicamente 70-100 nucleotídeos) pela *Drosha*, a qual é parte de dois complexos multiproteicos, incluindo RNA helicase, ribonucleoproteínas nucleares heterogêneas e proteínas de ligação de RNA dupla fita. Pre-miRNAs são, então, ativamente transportados para o citoplasma através de um poro nuclear, exportina-5, para posterior processamento pela endonuclease citoplasmática *Dicer*, a qual, em colaboração com proteínas de ligação de RNA, clivam ambas as fitas do pre-miRNA *hairpin* duplo, gerando um RNA de cadeia dupla (19-25 nucleotídeos). Uma fita é, então, carregada em um complexo proteico chamado RISC, o qual é um complexo de ribonucleoproteínas constituído de uma RNA helicase A e proteínas, incluindo argonata-2 e TRBP, que facilita a ligação de

miRNAs aos seus mRNAs alvos. Ligação de miRNAs podem induzir tanto a degradação do mRNA ou repressão da tradução. Fonte: (ALEVIZOS & ILLEI, 2010).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

- Revisar a literatura sobre o papel de RNAs não-codificantes na adipogênese humana

3.2 Específicos

- Avaliar o papel de microRNAs na adipogênese humana;
- Avaliar o papel da obesidade nos microRNAs;
- Relacionar a influência da obesidade sobre microRNAs e alterações metabólicas no tecido adiposo, a partir de dados da literatura.

4 METODOLOGIA

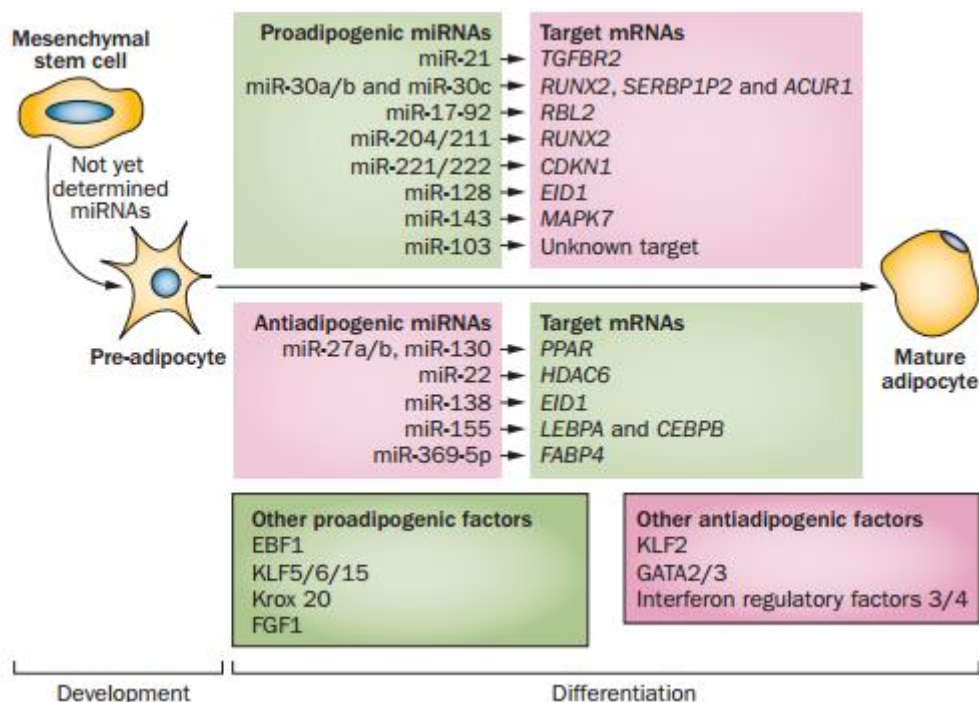
Realizou-se uma revisão da literatura existente, nos diretórios PudMed (NCBI) e Scopus. Utilizou-se a *string* de busca: (adipose[Title/Abstract] OR (adipose[Title/Abstract] AND tissue[Title/Abstract]) OR adipocytes[Title/Abstract] OR adipogenesis[Title/Abstract] OR preadipocytes[Title/Abstract]) AND (ncRNA[Title/Abstract] OR noncoding[Title/Abstract] OR non-coding[Title/Abstract] OR non-protein[Title/Abstract] OR ncRNAs[Title/Abstract]).

Resultando em 99 e 253 artigos científicos, respectivamente. Após análise de título, resumo e metodologia, foram excluídas revisões científicas, com exceção de uma que norteou a busca por outros trabalhos, textos em línguas diferentes do inglês e trabalhos que envolviam outras patologias que não a obesidade. Dessa forma, 15 artigos científicos originais, realizados em humanos foram selecionados, além de uma revisão científica sobre o tema.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como descrito, *PPAR γ* e a família de fatores de transcrição *C/EBP* são fatores chave para a adipogênese e a função de miRNAs como estimuladores ou inibidores da diferenciação de adipócitos tem sido investigada (Figura 6).

Figura 6 – miRNAs e alvos que contribuem para a adipogênese em humanos



Adipogênese é induzida por fatores de transcrição, e outros genes, os quais interagem com outros fatores e miRNAs. Fatores adicionais podem agir tanto como indutores quanto inibidores da adipogênese (fatores pró-adipogênicos e anti-adipogênicos, respectivamente). Fonte: ARNER & KULYTE, 2015

Por meio de oligonucleotídeos antisense (ASOs), Esau et al. (2004), demonstraram, pela primeira vez, que miRNAs estão envolvidos na diferenciação de adipócitos humanos. Os resultados indicaram que miR-143 promove a diferenciação e sua ação pode estar relacionada com seu provável gene alvo *ERK5* (Esau et al., 2004). Esses resultados sinalizaram a importância do estudo do papel dos miRNAs na regulação de processos chave do tecido adiposo, representando, dessa forma, novos alvos terapêuticos para a obesidade.

Desde quando identificado como o miRNA mais expresso em tumor cerebral glioblastoma humano (KIM et al., 2009), o estudo do miR-21 no contexto do desenvolvimento, oncologia, biologia de células tronco e envelhecimento teve

início. Em 2009, Kim e colaboradores, demonstraram o papel do miR-21 durante a diferenciação de hASCs (células tronco mesenquimais derivadas do tecido adiposo humano), de forma especial, ligado à sequência alvo da região 3' não traduzida do *TGFBR2*.

Também, em hASCs, Zaragosi et al. (2011) identificaram um miRNA altamente expresso e, ainda, sem anotação, miR-624a-3p, adipócito específico, além de demonstrarem que a família miR-30 apresenta um papel central no desenvolvimento dos adipócitos. Segundo Karbiener et al. (2011), a expressão de miR-30c estava aumentada durante a adipogênese em hMADS, e seu aumento de expressão induziu o acúmulo de triglicerídeos. Análises de predição, ainda, demonstraram os alvos do miR-30c, *PAI-1 (SERPINE1)* e *ALK2 (ACVr1, ACTR1)*, posteriormente confirmados em ensaios, o que reforça o papel regulatório da família miR-30 na adipogênese (KARBIENER et al. 2011).

Após análise da expressão global de miRNAs em tecido adiposo subcutâneo e visceral, Klöting et al. (2009) constataram não haver expressão de miRNA exclusivo aos depósitos de tecido adiposo, embora apresentasse diferenças na expressão. Os autores demonstram, ainda, que a expressão de miR-17-5p, miR-132, miR-134, miR-181a, miR-27a, miR-30e, miR-140, miR-147, miR-155, miR-197 e miR-210 possuem um papel entre a disfunção do tecido adiposo e o desenvolvimento da obesidade, associado a desordens como *diabetes mellitus* tipo 2 (KLÖTING et al., 2009). Como exemplo, a expressão de miR-17-5-p, miR-132, miR-99a, miR-134, miR-181a, miR-145 e miR-197, estavam significativamente relacionados tanto com a morfologia do tecido adiposo quanto à parâmetros metabólicos, como área de gordura visceral, HbA1c, glicose plasmática em jejum e leptina, adiponectina e interleucina-6 circulantes (KLÖTING et al., 2009). Além disso, outro interessante achado dos autores foi a relação de aproximadamente 7% dos miRNAs detectáveis estarem significativamente associados ao tamanho do adipócito, fato relevante para o desenvolvimento do quadro de obesidade metabolicamente, ou não, saudável (KLÖTING et al., 2009).

Martinelli et al. (2009) também encontraram miRNAs diferentemente expressos em tecido adiposo subcutâneo de indivíduos com obesidade severa, não diabéticos, quando comparados com indivíduos não obesos. Dentre os 42 miRNAs diferentemente expressos, apenas o miR-519d foi confirmado por meio

de RT-PCR. Os autores demonstraram que miR-519d suprime a tradução, de maneira dose-dependente, da proteína PPARalfa, e aumenta o acúmulo de lipídios durante a diferenciação de pré-adipócitos, o que sugere um desequilíbrio metabólico associado a hipertrofia dos adipócitos, durante a obesidade (MARTINELLI et al., 2009).

Outro miRNA que demonstrou afetar a expressão de genes do PPAR é o miR-130, reprimindo a expressão de *PPARgama* (LEE et al., 2010). Os autores identificaram, ainda, que tecido adiposo de mulheres obesas apresentavam significativamente menos miR-130 e maiores níveis de mRNA *PPARgama*, comparadas com mulheres não obesas, sugerindo que essas alterações no miR-130 e *PPARgama* estão ligadas à obesidade em humanos (LEE et al., 2010). *PPARgama* também demonstrou ser alvo do miR-27b, que inibindo potentemente o fator de transcrição em células tronco derivadas de tecido adiposo humano multipotente (hMADS). Além disso, a exacerbada expressão de miR-27b reduziu a indução, também, do *C/EBPalfa*, outro regulador chave da adipogênese (KARBIENER et al., 2009). Ainda em hMADS, miR-1908 demonstrou ter o mesmo efeito quando expresso, inibindo a diferenciação, no entanto, aumentando a proliferação de pré-adipócitos (YANG et al., 2013).

Muitos autores têm buscado a relação entre obesidade e tecido adiposo associados à miRNA. Recentemente, Li et al. (2014), demonstraram 182 pares regulatórios para obesidade, como exemplo hsa-miR-16/COL12A1 e hsa-miR-634/SLC4A4 que se co-expressam e possuem um papel importante na patogênese da obesidade. Outro exemplo de miRNA relacionado a obesidade é o miR-26b, um miRNA intrônico (hsa-miR-26b) localizado no gene *CTDSP1*. Xu et al. (2013) demonstraram que TNF-alfa, leptina e resistina causam diminuição da regulação de hsa-miR-26b em adipócitos, enquanto ácidos graxos livres, glicose, glucocorticóides e hormônio do crescimento (GH) também diminuiram a regulação do miR-26b (XU et al. 2014), apresentando ser um importante mediador na regulação na sensibilidade a insulina e resposta inflamatória (XU et al., 2013, XU et al., 2014).

Em tecido adiposo de mulheres resistentes a insulina, o miR-223, demonstrou ser positivamente correlacionado com HOMA-IR, além da correlação inversa com a proteína GLUT4 (CHUANG et al., 2015). Ademais, Chuang e colaboradores (2015) demonstraram que miR-223 regula a expressão

de GLUT5 através da ligação direta à sua região 3'UTR, sendo um miRNA com alto potencial terapêutico para tratamento de desordens associadas a resistência à insulina, como a obesidade. A regulação da lipólise, por sua vez, tem demonstrado ser regulada por miR-145 via múltiplos mecanismos envolvendo o aumento da produção e processamento de TNF-alfa em células de gorduras (LORENTE-CEBRIÁN et al., 2014).

CONCLUSÃO

Entender e delinear a biologia do tecido adiposo e fatores que interferem na adipogênese é a chave para identificação de alvos terapêuticos para a obesidade.

MiRNAs têm demonstrado papel regulatório essencial na adipogênese, além de influência sobre a expressão de adiponectinas e hormônios ligados a resistência à insulina.

Ao revisar a literatura, constata-se o crescente esforço da comunidade científica em identificar miRNA, delinear o modo de ação e encontrar genes alvo dos miRNA já anotados. Identificação e delineamento dos miRNAs no tecido adiposo faz-se um campo da bioinformática e biologia molecular essencial para o entendimento da patogênese da obesidade e desordens associadas.

REFERÊNCIAS

ALI, A.T.; HOCHFELD, W.E.; MYBURGH, R.; PEPPER, M.S. Adipocyte and adipogenesis. *Eur J Cell Biol.* v. 92, n. 6-7, p. 229-236, 2013.

ALLOTT, E.H.; HURSTING, S.D. Obesity and cancer: mechanistic insights from transdisciplinary studies. *Endocr Relat Cancer.* v. 22, n. 6, p. R365-86, 2015.

ALVAREZ, M.S.; FERNANDEZ-ALVAREZ, A.; CUCARELLA, C.; CASADO, M. Stable SREBP 1a knockdown decreases the cell proliferation rate in human preadipocyte cells without inducing senescence. *Biochem Biophys Res Commun.* v. 447, n. 1, p. 51-54, 2014.

ARNER, P.; KULYTÉ, A. MicroRNA regulatory networks in human adipose tissue and obesity. *Nat Rev Endocrinol.* v. 11, n. 5, p. 276-88, 2015.

BILLION, N.; MONTEIRO, M.C.; DANI, C. Developmental origin of adipocytes: new insights into a pending question. *Biol. Cell.* v. 100, n. 10, p. 563-75, 2008.

CHUANG, T.Y.; WU, H.L.; CHEN, C.C.; GAMBOA, G.M.; LAYMAN, L.C.; DIAMOND, M.P.; AZZIZ, R.; CHEN, Y.H. MicroRNA-223 expression is upregulated in insulin resistant human adipose tissue. *J Diabetes Res.* v. 2015, p. 943659, 2015.

CORNELIUS, P., MacDOUGALD, O.A., LANE, M.D. Regulation of adipocyte development. *Annu Rev Nutr* v. 14, p. 99-129, 2014.

ESAU, C.; KANG, X.; PERALTA, E.; HANSON, E.; MARCUSSON, E.G.; RAVICHANDRAN, L.V.; SUN, Y.; KOO, S.; PERERA, R.J.; JAIN, R.; DEAN, N.M.; FREIER, S.M.; BENNETT, C.F.; LOLLO, B.; GRIFFEY, R. MicroRNA-143 regulates adipocyte differentiation. *J Biol Chem.* v. 279, n. 50, p. 52361-5, 2004.

FÈVE, B. Adipogenesis: cellular and molecular aspects. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* v. 19, n. 4, p. 483-99, 2005.

GREEN, H.; KEHINDE, O. Spontaneous heritable changes leading to increased adipose conversion in 3T3 cells. *Cell.* v. 7, p. 105-113, 1976.

GREEN, H.; MEUTH, M. An established pre-adipose cell line and its differentiation in culture. *Cell*. v. 3, p. 127-133, 1974.

GREGOIRE, F.M.; SMAS, C.M.; SUL, H.S. Understanding adipocyte differentiation. *Physiol Ver*. v. 78, p. 783-809, 1998.

GREGOR, M.F.; HOTAMISLIGIL, G.S. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol*. v. 29, p. 415-45, 2011.

HEINÄNIEMI, M.; USKI, J.O.; DEGENHARDT, T.; CARLBERG, C. Meta-analysis of primary target genes of peroxisome proliferator-activated receptors. *Genome Biol*. v. 8, n. 7, p. R147, 2007.

ILIAS, A.; GABOR, G. I. MicroRNAs as biomarkers in rheumatic diseases. *Nature Reviews Rheumatology*. v. 6, p. 391-398, 2010.

KARBIENER, M.; FISCHER, C.; NOWITSCH, S.; OPRIESSNIG, P.; PAPAK, C.; AILHAUD, G.; DANI, C.; AMRI, E.Z.; SCHEIDELER, M. microRNA miR-27b impairs human adipocyte differentiation and targets PPARgamma. *Biochem Biophys Res Commun*. v. 390, n. 2, p. 247-51, 2009.

KARBIENER, M.; NEUHOLD, C.; OPRIESSNIG, P.; PROKESCH, A.; BOGNER-STRAUSS, J.G.; SCHEIDELER, M. MicroRNA-30c promotes human adipocyte differentiation and co-represses PAI-1 and ALK2. *RNA Biol*. v. 8, n. 5, p. 850-60, 2011.

KIM, Y.J.; HWANG, S.J.; BAE, Y.C.; JUNG, J.S. MiR-21 regulates adipogenic differentiation through the modulation of TGF-beta signaling in mesenchymal stem cells derived from human adipose tissue. *Stem Cells*. v. 27, n. 12, p. 3039-102, 2009.

KLÖTING, N.; BERTHOLD, S.; KOVACS, P.; SCHÖN, M.R.; FASSHAUER, M.; RUSCHKE, K.; STUMVOLL, M.; BLÜHER, M. MicroRNA expression in human omental and subcutaneous adipose tissue. *PLoS One*. v. 4, n. 3, p. e4699, 2009.

KONG, J.; LI, Y.C. Molecular mechanism of 1,25dihydroxyvitamin D₃ inhibition of adipogenesis in 3T3-L1 cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. v. 290, n. 5, p. E916-24, 2006.

LAFONTAN, M. Adipose tissue and adipocyte dysregulation. *Diabetes Metab.* v. 40, n. 1, p. 16-28, 2014.

LAFONTAN, M. Fat cells: afferent and efferent messages define new approaches to treat obesity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* v. 45, p. 119-46, 2005.

LEE, E.K.; LEE, M.J.; ABDELMOHSEN, K.; KIM, W.; KIM, M.M.; SRIKANTAN, S.; MARTINDALE, J.L.; HUTCHISON, E.R.; KIM, H.H.; MARASA, B.S.; SELIMYAN, R.; EGAN, J.M.; SMITH, S.R.; FRIED, S.K.; GOROSPE, M. miR-130 suppresses adipogenesis by inhibiting peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression. *Mol Cell Biol.* v. 31, n. 4, p. 626-38, 2011.

LI, J.; ZHOU, C.; LI, J.; SU, Z.; SANG, H.; JIA, E.; SI, D. Global correlation analysis for microRNA and gene expression profiles in human obesity. *Pathol Res Pract.* v. 211, n. 5, p. 361-8, 2015.

LORENTE-CEBRIAN, S.; MEJHERT, N.; KULYTE, A.; LAURENCIKIENE, J.; ASTROM, G.; HEDÉN, P.; RYDÉN, M.; ARNER, P. MicroRNAs Regulate Human Adipocyte Lipolysis: Effects of miR-145 Are Linked to TNF- α . *PLoS ONE.* v. 9, n. 1, p. e86800, 2014.

MARTINELLI, R.; NARDELLI, C.; PILONE, V.; BUONOMO, T.; LIGUORI, R.; CASTANÒ, I.; BUONO, P.; MASONE, S.; PERSIGO, G.; FORESTIERI, P.; PASTORE, L.; SACCHETTI, L. miR-519d overexpression is associated with human obesity. *Obesity.* v. 18, n. 11, p. 2170-6, 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Vigitel Brasil 2014: Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico.* 2015. Disponível em: <<http://www.portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/>>. Acessado em: 16. Nov. 2015.

MORENO-NAVARRETE, J.M.; FERNÁNDEZ-REAL, J.M. Adipose tissue biology: Adipocyte differentiation. *Springer New York.* p. 17-28, 2012.

NTAMBI, J.M.; KIM, Y.C. Adipocyte differentiation and gene expression. *J Nutr.* v. 130, n. 12, p. 3122S-3126S, 2000.

PASCHOAL, A.R.; MARACAJA-COUTINHO, V.; SETUBAL, J.C.; SIMÕES, Z.L.; VERJOVSKI-ALMEIDA, S.; DURHAM, A.M. Non-coding transcription characterization and annotation: a guide and web resource for non-coding

RNA databases. *RNA Biol.* v. 9, n. 3, p. 274-82, 2012.

ROSEN ED, WALKEY CJ, PUIGSERVER P, SPIEGELMAN BM.
Transcriptional regulation of adipogenesis. *Genes Dev.* v. 14, n. 11, p. 1293-1307, 2000.

RUTKOWSKI, J.M.; STERN, J.H.; SCHERER, P.E. The cell biology of fat expansion. *J Cell Biol.* v. 208, n. 5, p. 501-12, 2015.

SCHMITZ, U.; NADERI-MESHKIN, H.; GUPTA, S.K.; WOLKENHAUER, O.; VERA, J. The RNA world in the 21st century- a system approach to finding non-coding keys to clinical questions. *Brief Bioinform.* v. 17, n. 3, p. 380-92, 2016.

SIERSBÆK, R.; NIELSEN, R.; MANDRUP, S. Transcriptional networks and chromatin remodeling controlling adipogenesis. *Trends Endocrinol Metab.* v. 23, n. 2, p. 56-64, 2012.

SNA, Sistema Nacional de Auditoria. Doenças ligadas à obesidade custam R\$ 488 milhões. 2013. Disponível em:
<<http://sna.saude.gov.br/noticias.cfm?id=5013>>. Acessado em: 19 Nov. 2015.

TCHKONIA, T.; MORBECK, D.E.; VON ZGLINICKI, T.; VAN DEURSEN, J.; LUSTGARTEN, J.; SCRABLE, H.; KHOSLA, S.; JENSEN, M.D.; KIRKLAND, J.L. Fat tissue, aging, and cellular senescence. *Aging Cell.* v. 9, n. 5, p. 667-84, 2010.

VIDAL-PUIG, A. Adipose tissue expandability, lipotoxicity and the metabolic syndrome. *Endocrinol Nutr.* v. 60, n. 1, p. 39-43, 2013.

VIRTUE, S.; VIDAL-PUIG, A. It's not how fat you are, it's what you do with it that counts. *PLoS Biol.* v. 6, n. 9, p. e237, 2008.

WABITSCH, M.; BRENNER, R.E.; MELZNER, I.; BRAUN, M.; MÖLLER, P.; HEINZE, E.; DEBATIN, K.M.; HAUNER, H. Characterization of a human preadipocyte cell strain with high capacity for adipose differentiation. *Int J Obes Relat Metab Disord.* v. 25, n. 1, p. 8-15, 2001.

WABITSCH, M.; BRÜDERLEIN, S.; MELZNER, I.; BRAUN, M.; MECHTERSHEIMER, G.; MÖLLER, P. LiSa-2, a novel human liposarcoma cell

line with a high capacity for terminal adipose differentiation. *Int J Cancer*. v. 88, n. 6, p. 889-94, 2000.

WHO, Media Centre. Obesity and overweight. WHO: Fact sheet N° 311. 2015. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>>. Acessado em: 16 Nov. 2015.

WOOD, R.J. Vitamin D and adipogenesis: new molecular insights. *Nutr Rev*. v. 66, n. 1, p. 40-6, 2008.

WU, Z.; ROSEN, E.D.; BRUN, R.; HAUSER, S.; ADELMANT, G.; TROY, A.E.; MCKEON, C.; DARLINGTON, G.J.; SPIEGELMAN, B.M. Cross-regulation of C/EBP alpha and PPAR gamma controls the transcriptional pathway of adipogenesis and insulin sensitivity. *Mol Cell*. v. 3, n. 2, p. 151-8, 1999.

XU, G.; JI, C.; SHI, C.; FU, H.; ZHU, L.; ZHU, L, XU L, CHEN L, FENG Y, ZHAO Y, GUO X. Modulation of has-miR-26b levels following adipokine stimulation. *Mol Biol Rep*. v. 40, n. 5, p. 3577-82, 2013.

XU, G.; SHI, C.; JI, C.; SONG, G.; CHEN, L.; YANG, L.; ZHAO, Y.; GUO, X. Expression of microRNA-26b, an obesity-related microRNA, is regulated by free fatty acids, glucose, dexamethasone and growth hormone in human adipocytes. *Mol Med Rep*. v. 10, n.1, p. 223-8, 2014.

YANG, L.; SHI, C.M.; CHEN, L.; PANG, L.X.; XU, G.F.; GU, N.; ZHU, L.J.; GUO, X.R.; NI, Y.H.; JI, C.B. The biological effects of hsa-miR-1908 in human adipocytes. *Mol Biol Rep*. v. 42, n. 5, p. 927-35, 2015.

ZAMBONI, M.; ROSSI, A.P.; FANTIN, F.; ZAMBONI, G.; CHIRUMBOLO, S.; ZOICO, E.; MAZZALI, G. Adipose tissue, diet and aging. *Mech Ageing*. v.136, p. 129-37, 2014.

ZARAGOSI, L.E.; WDZIEKONSKI, B.; BRIGAND, K.L.; VILLAGEOIS, P.; MARI, B.; WALDMANN, R.; DANI, C.; BARBRY, P. Small RNA sequencing reveals miR-642a-3p as a novel adipocyte-specific microRNA and miR-30 as a key regulator of human adipogenesis. *Genome Biol*. v. 12, n. 7, p. R64, 2011.

ZHANG, Y.; PROENCA, R.; MAFFEI, M.; BARONE, M.; LEOPOLD, L.; FRIEDMAN, J.M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. v. 372, n. 6505, p. 425-32, 1994.