

BIOTRANS

Programa de Pós-Graduação em
Biomedicina Translacional

Mestrado e Doutorado



**UNIVERSIDADE DO GRANDE RIO - UNIGRANRIO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA
TRANSLACIONAL**

PATRÍCIA AGUIAR CARDOSO DE OLIVEIRA

**Avaliação da expressão de miR-125b-5p e miR-574-3p no
soro de pacientes obesas**

**DUQUE DE CAXIAS
2023**

PATRÍCIA AGUIAR CARDOSO DE OLIVEIRA

**Avaliação da expressão de miR-125b-5p e miR-574-3p no
soro de pacientes obesas**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biomedicina Translacional (PPG-BIOTRANS), da Universidade do Grande Rio – UNIGRANRIO, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências Biomédicas

Orientadores:

Prof^a. Dra. Cláudia Maria Pereira

Prof. Dr. Rômulo Sperduto Dezone

**DUQUE DE CAXIAS
2023**

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UNIGRANRIO – NÚCLEO DE COORDENAÇÃO DE BIBLIOTECAS

O48a Oliveira, Patrícia Aguiar Cardoso de.

Avaliação da expressão de miR-125b-5p e miR-574-3p no soro de
pacientes obesas / Patrícia Aguiar Cardoso de Oliveira. – Duque de Caxias,
Rio de Janeiro, 2023.
137 f.

Orientadora: Dra. Cláudia Maria Pereira
Orientador: Dr. Rômulo Sperduto Dezone

Tese (doutorado) – UNIGRANRIO, Escola de Ciência da Saúde, Programa
de Pós-Graduação em Biomedicina Translacional, Rio de Janeiro, 2023.

1. Adipogênese. 2. Epigenética. 3. miRNAs. 4. Obesidade. 5. Obesidade
visceral. I. Pereira, Cláudia Maria. II. Dezone, Rômulo Sperduto. III Título. IV.
UNIGRANRIO.

CDD: 610

Rodrigo de Oliveira Brainer CRB-7: 6814

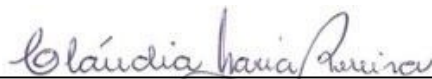
PATRÍCIA AGUIAR CARDOSO DE OLIVEIRA

**Avaliação da expressão de miR-125b-5p e miR-574-3p no soro
de pacientes obesas**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biomedicina Translacional (PPG-BIOTRANS), da Universidade do Grande Rio – UNIGRANRIO, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências Biomédicas

Aprovada em 13 de janeiro de 2023

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Cláudia Maria Pereira (Orientadora)
Universidade do Grande Rio – UNIGRANRIO

Documento assinado digitalmente



ROMULO SPERDUTO DEZONNE

Data: 22/03/2024 07:57:55-0300

Verifique em <https://validar.it.gov.br>

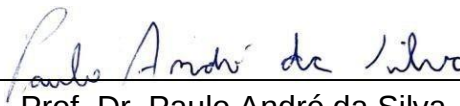
Prof. Dr. Rômulo Sperduto Dezone (Orientador)
Universidade do Grande Rio – UNIGRANRIO



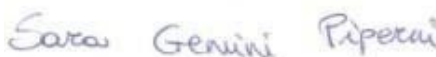
Profa. Dra. Carina Maciel da Silva Boghossian
Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)



Prof. Dr. Marcos Santos
Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)



Prof. Dr. Paulo André da Silva
Universidade do Grande Rio (UNIGRANRIO)



Profa. Dra. Sara Gemini Piperni
Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

**DUQUE DE CAXIAS
2023**

DEDICATÓRIA

Ao meu marido e filho, Rogério e Raphael, presentes mais lindos e preciosos que Deus me deu, motivos da minha alegria, entusiasmo e desejo de aprendizado e crescimento contínuo.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por tudo que tenho e sou, por me amparar e cuidar de mim todos os dias, e pelo privilégio da concretização de mais esse sonho.

À minha orientadora, Prof^a. Dra. Cláudia Maria Pereira por sua dedicação, ensinamentos, generosidade, carinho e paciência comigo durante esta caminhada, por me permitir experimentar novos conhecimentos, e possibilitar a conclusão de mais essa etapa tão importante na minha vida profissional e pessoal.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rômulo Sperduto Dezone, pela atenção, apoio, correções, incentivo ao estudo contínuo, e grandeza ao dividir comigo seus preciosos conhecimentos.

À mestrandia Hadassa Almenara, pela dedicação em se fazer presente sempre que precisamos, por sua participação direta e fundamental no processamento e análise de dados na elaboração deste estudo, por sua amizade, carinho e companheirismo de sempre.

Ao meu esposo Rogério, meu grande incentivador, por estar comigo nos momentos de cansaço, euforia, frustração, vitórias, lágrimas e alegrias, me impulsionando a olhar e seguir sempre em frente.

Ao meu filho Raphael, a quem tanto desejo ser exemplo de força, coragem e determinação, por ser um filho tranquilo, honesto, trabalhador e responsável, enchendo meu coração de orgulho e a certeza do dever cumprido.

Aos meus pais, José e Maria da Penha, pessoas que sempre desejei ser motivo de grande orgulho, e em especial a minha mãe, que em sua simplicidade, me despertou uma vontade gigantesca de “crescer em conhecimento”.

À Universidade do Grande Rio (UNIGRANRIO), pela oportunidade de crescimento profissional e pessoal, e por todo suporte na realização deste trabalho.

Ao Laboratório de Genética Humana (LabGen) e Laboratório Multidisciplinar (LAMP) da Unigranrio, fundamentais no processamento e análise de nossas amostras de estudo.

Ao Laboratório de Análises Clínicas da Unigranrio (Laborafe), pela coleta, processamento e análise bioquímica das amostras de nosso trabalho.

À Pós-doutoranda Danielle Dutra Voigt, pela ajuda, apoio e ensinamento ... desenvolvimento de nossa pesquisa nos laboratórios LabGen e LAMP, pelo aprendizado, amizade e incentivo, por ser uma pessoa mais que especial, um ombro amigo, uma companheira de almoços, desabafos e alegrias.

À todos os professores do Programa de Pós-graduação em Biomedicina Translacional (BIOTRANS) pelas diversas descobertas e aprendizados proporcionados, do mestrado ao doutorado, e particularmente aqueles que possibilitaram meus primeiros e importantes passos, e que sempre se dispuseram a esclarecer minhas dúvidas, contribuindo gentilmente para meu aprendizado, dos quais destaco os Professores Virginia Genelhu de Abreu, Emilio Antonio Francischetti, Paulo André da Silva, Pedro Hernan Cabello Acero, Sara Gemini Piperni, Carina Maciel da Silva Boghossian e Marlene Benchimol.

À Ana Beatriz, pelo tempo que convivemos no LAMP, pelo incentivo, amizade e ensinamentos, e por me proporcionar os momentos mais hilários deste período de estudo, e do qual tenho tantas saudades.

À todos os mestrandos e doutorandos do BIOTRANS, aos companheiros de experimentos nos laboratórios (LabGen e LAMP), que passaram por minha vida durante este período de estudos, e tornaram mais leve essa caminhada, em especial à Karine Coimbra, com quem realizei parte de meu trabalho.

À PDC Saúde, que me possibilitou a finalização da coleta de dados dos voluntários deste trabalho, e em especial a colaboradora Simone Moutinho, pela parceria, cuidado e carinho de sempre.

Aos organizadores do BIOTRANS, e em especial ao coordenador geral Prof. Sergian Vianna Cardozo, que sempre competentes, gentis e generosos, proporcionaram o apoio e suporte necessários à minha formação.

À Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), pelo apoio financeiro através do auxílio nº 111.957/2010, o que possibilitou o desenvolvimento do presente projeto.

"Em algum lugar, alguma coisa incrível está esperando para ser descoberta."

Carl Sagan

RESUMO

A obesidade, doença multifatorial e complexa, caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo, é considerada, atualmente, um sério problema de saúde pública global, com aumento significativo no risco de desenvolvimento da diabetes *mellitus*, hipertensão e síndrome metabólica. E diversos estudos correlacionam o papel fundamental dos mecanismos epigenéticos no desenvolvimento da obesidade e de suas comorbidades associadas. Neste sentido, os miRNAs se destacam como moléculas reguladoras das atividades celular e fisiológica, relacionados à gênese de diversas patologias, incluindo a obesidade. Por esta razão, este estudo teve como objetivo avaliar a expressão de miRNAs circulantes miR-125b-5p e miR-574-3p, no soro de 23 mulheres entre 20 e 45 anos, recrutadas entre acadêmicas e funcionárias da UNIGRANRIO, com variados graus de adiposidade, separadas distintamente em grupo peso normal e obeso, clinicamente saudáveis, correlacionando a expressão destes miRNAs a variáveis demográficas, antropométricas, pressóricas e bioquímicas. Nossos principais resultados mostraram que os grupos de estudo foram compostos principalmente por mulheres brancas e pardas, com idade média populacional de 28,52 ($\pm 6,75$) anos. O grupo obeso, constituído particularmente pelo grau I, exibiu valores significativamente mais elevados de peso, índice de massa corporal (IMC), circunferência da cintura (CC), circunferência do quadril (CQ), relação cintura/quadril (RCQ), pressão arterial diastólica e média, glicose, insulina, HOMA-IR; e mais baixos de HDL-Colesterol; e teve uma das pacientes diagnosticada com síndrome metabólica. Na análise entre as variáveis antropométricas, pressóricas e bioquímicas, houve uma correlação positiva muito forte entre IMC e CC, IMC e CQ; e positiva forte entre HOMA-IR e CC. Além do mais, não houve nenhuma diferença significativa na expressão de miR-125b-5p e miR-574-3p nos grupos de estudo. Nossos resultados corroboram com dados científicos existentes, sugerindo o miR-125b-5p e miR-574-3p como biomarcadores aceitáveis e adicionais no diagnóstico precoce de doenças cardiometabólicas associadas à obesidade.

Palavras-chave: adipogênese; epigenética; obesidade; obesidade visceral; miRNAs.

ABSTRACT

Obesity, a multifactorial and complex disease characterized by excessive accumulation of adipose tissue, is currently considered a serious global public health problem, with a significant increase in the risk of developing diabetes mellitus, hypertension and metabolic syndrome. And several studies correlate the fundamental role of epigenetic mechanisms in the development of obesity and its associated comorbidities. In this sense, miRNAs stand out as molecules that regulate cellular and physiological activities, related to the genesis of several pathologies, including obesity. For this reason, this study aimed to evaluate the expression of circulating miRNAs miR-125b-5p and miR-574-3p, in the serum of 23 women between 20 and 45 years old, recruited among academics and employees of UNIGRANRIO, with varying degrees of adiposity, distinctly separated into normal weight and obese groups, clinically healthy, correlating the expression of these miRNAs to demographic, anthropometric, blood pressure and biochemical variables. Our main results showed that the study groups were mainly composed of white and mixed-race women, with an average population age of 28.52 (± 6.75) years. The obese group, particularly grade I, exhibited significantly higher values for weight, body mass index (BMI), waist circumference (WC), hip circumference (HC), waist/hip ratio (WHR), diastolic blood pressure and mean, glucose, insulin, HOMA-IR; and lower HDL-Cholesterol; and one of the patients was diagnosed with metabolic syndrome. In the analysis between anthropometric, blood pressure and biochemical variables, there was a very strong positive correlation between BMI and WC, BMI and HC; and strong positive between HOMA-IR and CC. Furthermore, there was no significant difference in the expression of miR-125b-5p and miR-574-3p in the study groups. Our results corroborate existing scientific data, suggesting miR-125b-5p and miR-574-3p as acceptable and additional biomarkers in the early diagnosis of cardiometabolic diseases associated with obesity.

Keywords: adipogenesis; epigenetics; obesity; visceral obesity; miRNAs.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Prevalência global de obesidade.....	18
Figura 2	Prevalência de déficit de peso, excesso de peso e obesidade em população brasileira ≥ 18 anos, por sexo.....	19
Figura 3	Efeito da obesidade na inflamação crônica.....	22
Figura 4	Variedade, localização e principal função de adipócitos.....	23
Figura 5	Efeitos da obesidade no tecido adiposo branco.....	26
Figura 6	Efeitos da obesidade na resistência insulínica sistêmica.....	28
Figura 7	Efeitos da hiperleptinemia no desenvolvimento da hipertensão.....	32
Figura 8	Etapas do processo de biossíntese de miRNAs em mamíferos.....	38
Figura 9	Visão geral de miRNAs relacionados a regulação da adipogênese.....	39
Figura 10	Ação regulatória dos miRNAs na adipogênese.....	42
Figura 11	Influência de miR-125b-5p em células adiposas.....	44
Figura 12	Localização gênica de miR-574-3p em humanos.....	46
Figura 13	Desenho esquemático representativo da metodologia aplicada ao desenvolvimento deste estudo.....	51
Figura 14	Fluxograma demonstrativo da identificação, seleção e amostra final de pacientes na contribuição deste estudo.....	63
Figura 15	Avaliação da amplificação de miRNAs em amostras de soro.....	69
Figura 16	Expressão dos miR-125b-5p e miR-574-3p por <i>qPCR</i> nos grupos peso normal (EU) e obeso (OB).....	72
Figura 17	Expressão dos miR-125b-5p e miR-574-3p por <i>qPCR</i> nos grupos peso normal (EU) e grupo obeso (OB), sem a presença dos outliers.....	73

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Classificação das várias categorias de Índice de Massa Corporal (IMC) para indivíduos adultos.....	20
Quadro 2	Critérios estabelecidos para o diagnóstico de Síndrome Metabólica (SM).....	34
Quadro 3	Classificação dos valores de pressão arterial (PA) para >18 anos.....	53
Quadro 4	Valores de referência para as análises bioquímicas em indivíduos adultos do sexo feminino.....	56
Quadro 5	Critérios determinantes do diagnóstico clínico de Síndrome Metabólica (SM).....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características demográficas e antropométricas da população dos grupos total, peso normal (EU) e obeso (OB).....	65
Tabela 2	Características pressóricas da população dos grupos total, peso normal (EU) e obeso (OB).....	66
Tabela 3	Características bioquímicas da população dos grupos total, peso normal (EU) e obeso (OB).....	67
Tabela 4	Correlação entre variáveis clínicas e moleculares nas pacientes do estudo.....	68
Tabela 5	Expressão de miR-125b-5p e miR-574-3p nos grupos peso normal (EU) e obeso (OB).....	71
Tabela 6	Análise da correlação entre as anormalidades clínicas individuais e a expressão de miRNAs.....	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AVC	Acidente Vascular Cerebral
CC	Circunferência da Cintura
CQ	Circunferência do Quadril
CT	Colesterol Total
Ct	Limiar de Ciclo; do inglês, <i>Cycle Threshold</i>
DCV	Doenças Cardiovasculares
DM2	Diabetes <i>Mellitus</i> Tipo 2
EU	Peso Normal
FC	do inglês, <i>Fold Change</i>
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HDL-C	Lipoproteínas de Alta Densidade; do inglês, <i>High Density Lipoproteins</i>
HOMA-IR	Modelo de Avaliação da Homeostase da Resistência à Insulina; do inglês, <i>Homeostasis Assessment Model of Insulin Resistance</i>
IL-1	Interleucina-1
IL-6	Interleucina-6
IMC	Índice de Massa Corporal
LABORAFE	Laboratório de Análises Clínicas da Unigranrio
LDL-C	Lipoproteínas de Baixa Densidade; do inglês, <i>Low Density Lipoproteins</i>
MCP-1	Proteína-1 Quimioatraente de Monócitos; do inglês, <i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>
MC4R	Receptor Tipo 4 de Melanocortina; do inglês, <i>Melanocortin 4 Receptor</i>
miRNAs / miR	MicroRNAs
OB	Obeso
OMS	Organização Mundial da Saúde
PA	Pressão Arterial
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAM	Pressão Arterial Média
PAS	Pressão Arterial Sistólica
qPCR	PCR quantitativa

RBP4	Proteína Ligante de Retinol 4; do inglês, <i>Retinol Binding Protein 4</i>
RCQ	Relação Cintura/Quadril
RISC	Complexo de Silenciamento Induzido por RNA; do inglês, <i>RNA-Induced Silencing Complex</i>
SM	Síndrome Metabólica
SNS	Sistema Nervoso Simpático
TAB	Tecido Adiposo Branco
TAM	Tecido Adiposo Marrom
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TFG	Taxa de Filtração Glomerular
TG	Triglicerídeos
TNFα	Fator de Necrose Tumoral <i>alfa</i> ; do Inglês, <i>Tumor Necrosis Factor alpha</i>
UCP1	Proteína Desacopladora 1; do inglês, <i>Uncoupling Protein</i>
UNIGRANRIO	Universidade do Grande Rio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	Obesidade.....	17
1.2	Epidemiologia da obesidade.....	17
1.3	Determinação diagnóstica da obesidade.....	20
1.4	Tecido adiposo.....	22
1.5	Mecanismos fisiopatológicos associados à obesidade.....	24
1.5.1	Obesidade visceral.....	24
1.5.2	Resistência à insulina e diabetes <i>mellitus</i>	26
1.5.3	Hipertensão arterial sistêmica	29
1.5.4	Dislipidemia.....	32
1.5.5	Síndrome metabólica.....	33
1.6	miRNAs e obesidade.....	35
1.7	Biossíntese de miRNAs.....	36
1.8	miRNAs e seu papel regulatório na obesidade.....	38
1.8.1	miR-125b-5p.....	43
1.8.2	miR-574-3p.....	46
1.8.3	miR-370-3p.....	47
2	JUSTIFICATIVA.....	49
3	OBJETIVO.....	50
3.1	Objetivo geral.....	50
3.2	Objetivos específicos.....	50
4	METODOLOGIA.....	51
4.1	Caracterização do estudo.....	51
4.2	Casuística.....	52
4.2.1	Critérios de inclusão.....	52
4.2.2	Critérios de exclusão.....	52
4.3	Determinação da pressão arterial.....	53
4.4	Avaliação antropométrica.....	54
4.4.1	Índice de Massa Corporal (IMC) na determinação do estado nutricional.....	54
4.4.2	Circunferência da cintura (CC) e relação cintura/quadril (RCQ) como determinantes de complicações associadas à obesidade.....	54
4.5	Análises bioquímicas.....	55
4.5.1	Glicemia de jejum.....	56

4.5.2	Insulina.....	57
4.5.3	<i>Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR)</i>	57
4.5.4	Perfil lipídico (Colesterol total, HDL colesterol, LDL colesterol e Triglicerídeos).....	57
4.5.5	Ureia.....	58
4.5.6	Creatinina.....	58
4.6	Determinação diagnóstica da Síndrome Metabólica (SM)	58
4.7	Análise molecular	59
4.7.1	Extração de RNA das amostras.....	60
4.7.2	Confecção dos cDNAs.....	60
4.7.3	Análise de miRNAs por PCR quantitativa (<i>qPCR</i>).....	61
4.7.4	Avaliação do nível de expressão de miRNAs.....	61
4.8	Análise estatística	62
5	RESULTADOS	63
5.1	Caracterização da população do estudo	63
5.2	Correlação entre as variáveis antropométricas, pressóricas e bioquímicas nas pacientes do estudo	68
5.3	Determinação dos níveis de expressão dos miRNAs de estudo	68
5.4	Avaliação da expressão do miR-125b-5p e miR-574-3p nos grupos do estudo	69
5.5	Relação da expressão do miR-125b-5p e miR-574-3p nos grupos de estudo	72
5.6	Correlação entre a expressão de miR-125b-5p e miR-574-3p nos grupos de estudo, e as variáveis demográficas, antropométricas, pressóricas e bioquímicas	73
5.7	Comparação das anormalidades clínicas individuais com a expressão dos miRNAs analisados	73
6	DISCUSSÃO	76
7	CONCLUSÕES	90
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
	ANEXOS	128
	ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)	128
	ANEXO B - MODELO DE FICHA DE ANAMNESE (COLETA DE DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS E CLÍNICOS)	130
	ANEXO C - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA (CEP/UNIGRANRIO)	133
	ANEXO D – PUBLICAÇÃO DE MATERIAL CIENTÍFICO	137

1 INTRODUÇÃO

A obesidade, determinada por um acúmulo anormal ou excessivo de gordura corporal, pode ocasionar riscos à saúde (KLOP *et al.*, 2013). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) a obesidade é considerada um problema de saúde pública relevante que atinge não somente os países desenvolvidos, mas também, países em desenvolvimento. Dados de 2016 apontaram que entre os 1,9 bilhões de indivíduos adultos com idade ≥ 18 anos com excesso de peso, mais de 650 milhões já exibiam obesidade (WHO, 2021). No Brasil, segundo o Sistema de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL), em 2018 já existiam 55,7% de indivíduos com excesso de peso e 67,8% de obesos (BRASIL, 2019).

Do ponto de vista celular, com o processo de ganho excessivo de peso, o que se observa no tecido adiposo é uma associação entre hiperplasia e hipertrofia dos adipócitos, colaborando para a ocorrência de uma série de efeitos da obesidade no desenvolvimento de comorbidades associadas (TILG e MOSCHEN, 2006; ROMEO *et al.*, 2012).

Originada principalmente em decorrência de um desequilíbrio calórico crônico, marcado pela associação entre aumento da ingestão calórica e estilo de vida sedentário (HAIDAR e COSMAN, 2011), a obesidade pode diferenciar-se em determinados indivíduos de acordo com a predisposição genética (HERRERA *et al.*, 2011), bem como, por alterações ambientais e por mecanismos epigenéticos (DABELEA *et al.*, 2008; MARTINEZ *et al.*, 2012). Neste sentido, destacam-se os microRNAs (miRNAs ou miRs) (BARTEL, 2004; AHN *et al.*, 2013; HILTON *et al.*, 2013), importantes moléculas com atividade na repressão pós-transcricional (BARTEL, 2004; AHN *et al.*, 2013). Os miRNAs podem funcionar como promissoras ferramentas sinalizadoras do prognóstico, diagnóstico precoce, terapêutica da obesidade e de suas complicações cardiometabólicas associadas (VILLARD *et al.*, 2015).

Diante da epidemia da obesidade, são urgentes as buscas por soluções na esfera da saúde pública que ofereçam uma melhor compreensão sobre a patogênese dessa desordem, bem como a adoção de métodos efetivos coadjuvantes em seu tratamento e na redução do risco de doenças metabólicas a ela associadas. Visto que os miRNAs vêm ganhando cada vez mais destaque em

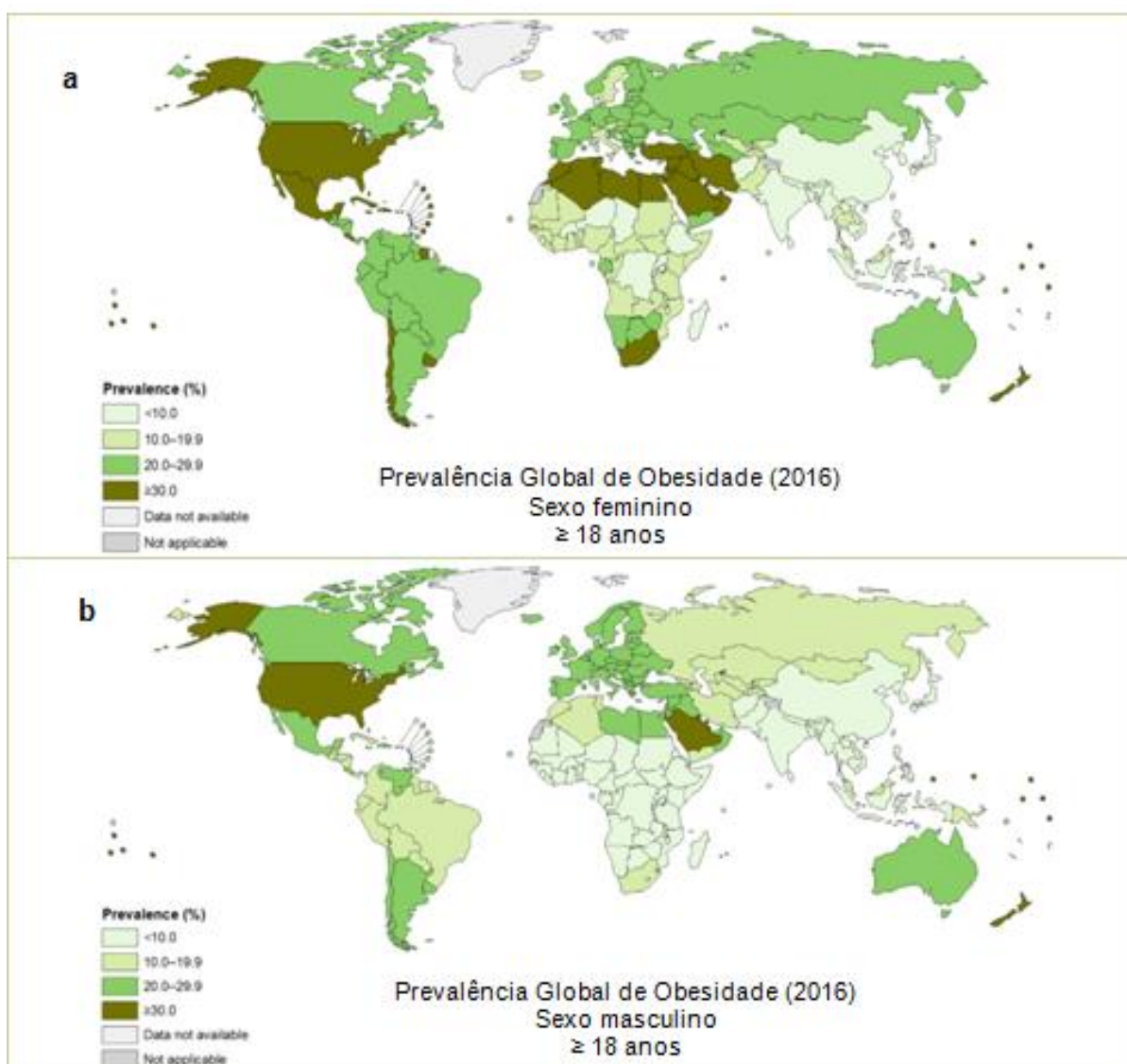
diversas situações metabólicas, torna-se imprescindível o estudo destas moléculas como ferramentas potenciais e adicionais no diagnóstico e tratamento desta doença e de suas complicações cardiometabólicas.

1.1 Obesidade

A obesidade humana, proporcionalmente crescente com a adoção de hábitos de vida ocidental, abrange as mais diversas etnias, grupos etários e classes sociais (HAIDAR e COSMAN, 2011). Ela é definida como um acúmulo corporal anormal ou excessivo de tecido adiposo (KWOK *et al.*, 2016; WHO, 2021), que pode ser localizado tanto em região subcutânea, quanto visceral (KWOK *et al.*, 2016), favorecendo uma série de comorbidades (WHO, 2021). De etiologia complexa e multifatorial (HAIDAR e COSMAN, 2011), a obesidade pode representar um fator de risco relevante no desenvolvimento de inúmeras patologias crônicas, como a diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), doenças cardiovasculares (DCV) e câncer (HAIDAR e COSMAN, 2011; WHO, 2021).

1.2 Epidemiologia da obesidade

Segundo dados da OMS para 2016, dos 1,9 bilhões de indivíduos adultos com idade ≥ 18 anos que estavam com excesso de peso, mais de 650 milhões já apresentavam obesidade, configurando um total de aproximadamente 13% da população adulta, porém, com maior distribuição entre as mulheres, sendo 15% para o sexo feminino e 11% para o masculino (**Figura 1**) (WHO, 2017; 2021). Nota-se com grande preocupação que a prevalência global da obesidade cresceu em quase três vezes entre os anos de 1975 e 2016. Com exceção de algumas áreas da África Subsaariana e da Ásia, verificam-se além de uma maior prevalência do excesso de peso e obesidade, maiores índices de mortalidade para estas populações, em comparação ao baixo peso (WHO, 2021). Já para 2017, estimou-se que uma população mundial superior a quatro milhões de indivíduos morrem por ano em decorrência do excesso de peso e da obesidade, relacionando-se em mais da metade dos casos à DCV (IHME, 2018; WHO, 2022).

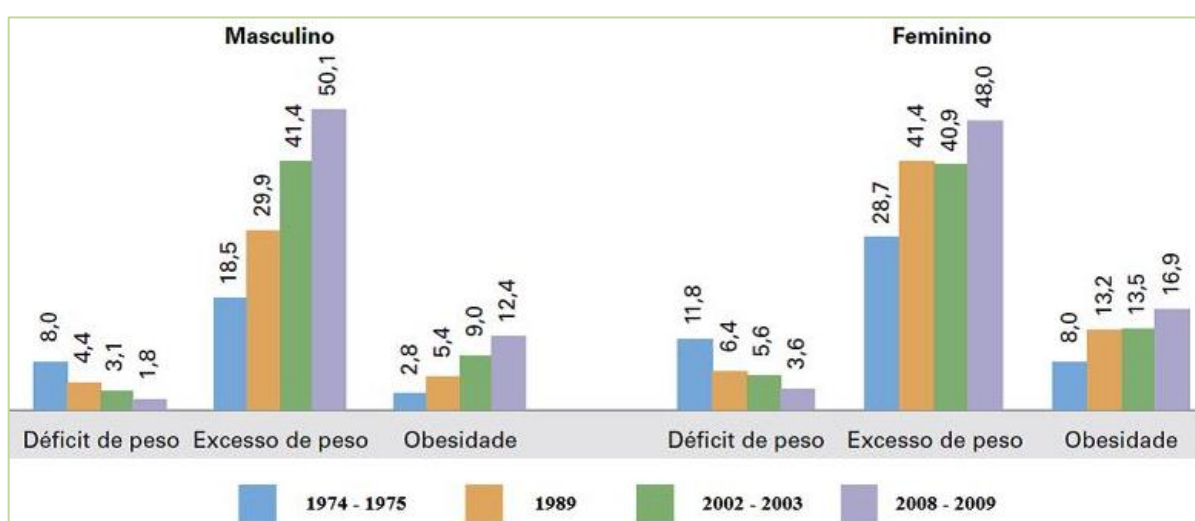
FIGURA 1 - PREVALÊNCIA GLOBAL DE OBESIDADE

Legenda: Nota-se que os três países prevalentes em obesidade para indivíduos adultos, considerando-se ambos os sexos são: Alasca (Círculo polar ártico), Estados Unidos da América e Arábia Saudita. Verifica-se também uma maior predisposição de obesidade entre as mulheres, na comparação entre os sexos. **(a)** representa a prevalência global de obesidade para o sexo feminino; **(b)** representa a prevalência global de obesidade para o sexo masculino. No Brasil, com relação às mulheres, nota-se uma prevalência de sobrepeso em todo país **(a)**. Já entre os homens, em todo território nacional, a prevalência é de peso normal **(b)**. Adaptado de *Global Health Observatory Map Gallery*, WHO, 2017.

No Brasil, como podemos observar na **Figura 2**, houve uma escalada no número de indivíduos obesos. A partir de uma pesquisa do Ministério da Saúde, realizada em parceria com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), demonstrou-se que 56,9% (82 milhões) da população com idade ≥ 18 anos apresentavam excesso de peso, tornando evidentes as grandes transformações observadas em um período de 35 anos decorridos do estudo. Essa transformação é

consequência do decréscimo das taxas de déficit de peso (desnutrição) e aumento dos índices de excesso de peso e obesidade para ambos os sexos (IBGE, 2010). Uma provável causa para a modificação desse perfil foram as grandes transformações ocorridas a partir da década de 70, tanto no comportamento alimentar quanto nos hábitos de vida, caracterizando uma fase de transição nutricional, fruto de uma combinação de alta ingestão de alimentos calóricos e redução no nível de atividade física (GRUNDY, 2004; MALIK *et al.*, 2013).

FIGURA 2 - PREVALÊNCIA DE DÉFICIT DE PESO, EXCESSO DE PESO E OBESIDADE EM POPULAÇÃO BRASILEIRA $\geq$ 18 ANOS, POR SEXO



Legenda: Verifica-se para ambos os sexos, uma escalada do excesso de peso e obesidade em detrimento de uma redução dos níveis de déficit de peso ao longo dos 35 anos de estudo. Adaptado de Antropometria e Estado Nutricional de Crianças, Adolescentes e Adultos no Brasil. Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2008-2009, IBGE, 2010.

Comprovando que o aumento na prevalência de excesso de peso e obesidade se mantém contínuos em nosso país, em 2018 alcançamos um número de 55,7% de indivíduos com excesso de peso. Com relação à obesidade, verificou-se nos últimos treze anos, um salto de 67,8% no número de casos, com aumento de seus índices percentuais de 11,8% (2006) para 19,8% (2018) (BRASIL, 2019). Dados de 2021 mostraram uma concentração mais elevada no percentual de excesso de peso para o sexo masculino (59,9%), na comparação ao feminino (55,0%), sendo entre os homens, em Porto Velho, João Pessoa e Manaus (respectivamente, 67,5%, 66,5% e 65,2%), e entre as mulheres, em Manaus, e Porto Velho e Belém (respectivamente, 61,8% e 61,0%). Quanto aos obesos, houve um resultado semelhante entre os sexos masculino (22,0%) e feminino (22,6%), sendo

para os homens, em Aracajú, Goiânia e Porto Velho (respectivamente, 27,9%, 26,7% e 26,6%), e entre as mulheres, em Manaus, Recife e Porto Velho (respectivamente, 26,6%, 26,5% e 26,2%) (BRASIL, 2022).

1.3 Determinação diagnóstica da obesidade

O diagnóstico clínico da obesidade é estabelecido internacionalmente pela utilização do Índice de Massa Corporal (IMC), um método muito simples e facilmente aplicável, obtido como resultado da divisão do peso (em Kg) pela estatura (em m²). O IMC pode ser utilizado para definir várias categorias. Os indivíduos que apresentem um IMC $\geq 30,0$ kg/m² são considerados obesos e categorizados em três graus de acordo com o nível da obesidade, como observado no **Quadro 1** (WHO, 1998; 2000; 2021).

QUADRO 1 - CLASSIFICAÇÃO DAS VÁRIAS CATEGORIAS DE ÍNDICE DE MASSA CORPORAL (IMC) PARA INDIVÍDUOS ADULTOS

Categorias	IMC (kg/m²)
Baixo peso	< 18.5
Peso normal	18.5 - 24.9
Sobrepeso	25.0 - 29.9
Obesidade	≥ 30.0
Obesidade grau I	30.0 - 34.9
Obesidade grau II	35.0 - 39.9
Obesidade grau III	≥ 40.0

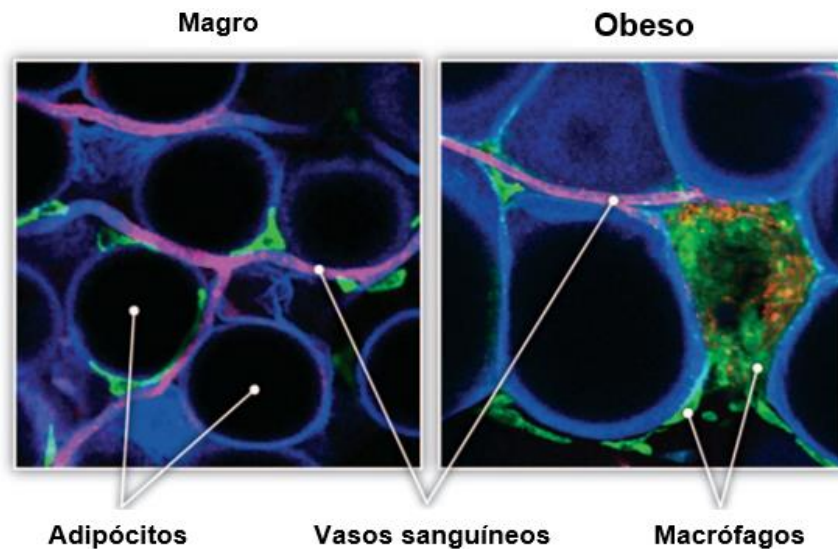
Legenda: Nota-se que além de diagnosticar o indivíduo com obesidade, as categorias de Índice de Massa Corporal (IMC) também servem para as definições de baixo peso, peso normal, sobrepeso, e diferentes graus de obesidade. Adaptado de *World Health Organization (WHO). Obesity: Preventing and managing the global epidemic: Report of a WHO consultation on obesity, 1998.*

Um aumento do IMC decorrente do excesso de peso corporal representa um risco real, significativo e adicional para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, como a DM2, as DCV, sobretudo por doenças cardíacas e acidente vascular cerebral (AVC), as alterações musculoesqueléticas (principalmente, a osteoartrite), assim como diversos tipos distintos de câncer como o de cólon, endométrio, fígado, mama, ovário, próstata, rim e vesícula biliar (WHO, 2021).

Entretanto, como o diagnóstico do IMC relaciona-se somente ao peso corporal total, e não a distribuição de gordura e composição orgânica pode ocorrer alguns erros de interpretação (SUN *et al.*, 2010; WHO, 2021). Neste sentido, outros parâmetros clínicos podem ser relevantes para a complementação da avaliação, considerando a composição e a distribuição da gordura corporal, como as medidas de circunferência da cintura (CC), circunferência de quadril (CQ) e o cálculo da relação cintura/quadril (RCQ) (CARR e BRUNZELL, 2004; ASHWELL e GIBSON, 2016). Esse padrão de distribuição de adiposidade corporal tem a capacidade de prever um maior ou menor risco à saúde (BLOUIN *et al.*, 2008; LEE *et al.*, 2013).

De acordo com a distribuição corporal, o padrão de adiposidade pode ser separado em dois grupos: (i) androide (também denominada: central, abdominal ou maçã), associado ao acúmulo de gordura na região intra-abdominal / tronco, observada mais comumente, mas não unicamente no sexo masculino; (ii) ginecoide (também chamada: periférica, inferior ou pêra), relacionada à maior concentração de tecido adiposo nas áreas do quadril, coxa e glúteos, mais frequentemente no sexo feminino. A distribuição androide está relacionada com maior risco de desenvolvimento de doenças cardiometabólicas, pela maior deposição de tecido adiposo em região visceral. Por outro lado, a distribuição ginecoide está relacionada com menor risco à saúde, por configurar um acúmulo subcutâneo de gordura (BLOUIN *et al.*, 2008; LEE *et al.*, 2013).

Sob o aspecto histológico e funcional, observa-se no indivíduo obeso, a presença de adipócitos circundados por um agregado de macrófagos, estabelecendo a correlação entre tecido adiposo obeso e inflamação crônica, favorecendo ao risco no desenvolvimento de comorbidades associadas à obesidade (TILG e MOSCHEN, 2006; APOVIAN *et al.*, 2008; ROMEO *et al.*, 2012) (**Figura 3**). Em tese, em obesos, há um aumento na proporção de macrófagos M1 (pró-inflamatórios), em relação aos macrófagos M2 (anti-inflamatórios), condição capaz de induzir a inflamação na obesidade, contribuindo significativamente para o risco da patogênese da DCV (RANA e NEELAND, 2022).

FIGURA 3 – EFEITO DA OBESIDADE NA INFLAMAÇÃO CRÔNICA

Legenda: Diferenças histológicas, em imagens de microscopia confocal, evidenciadas em amostras de gordura visceral de camundongos magros (alimentados com dieta normal) e obesos (com dieta hiperlipídica), a partir das colorações: verde (F4/80), referente aos macrófagos; vermelha (isolectina), aos vasos sanguíneos; e azul (caveolina), aos adipócitos. Nota-se no tecido obeso, ao redor de adipócitos, um agregado de macrófagos, organizados em estruturas parecidas com coroas, caracterizando a inflamação crônica estabelecida no tecido adiposo. Adaptado de Apovian et al.; *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 2008; 28: 1654 -1659.

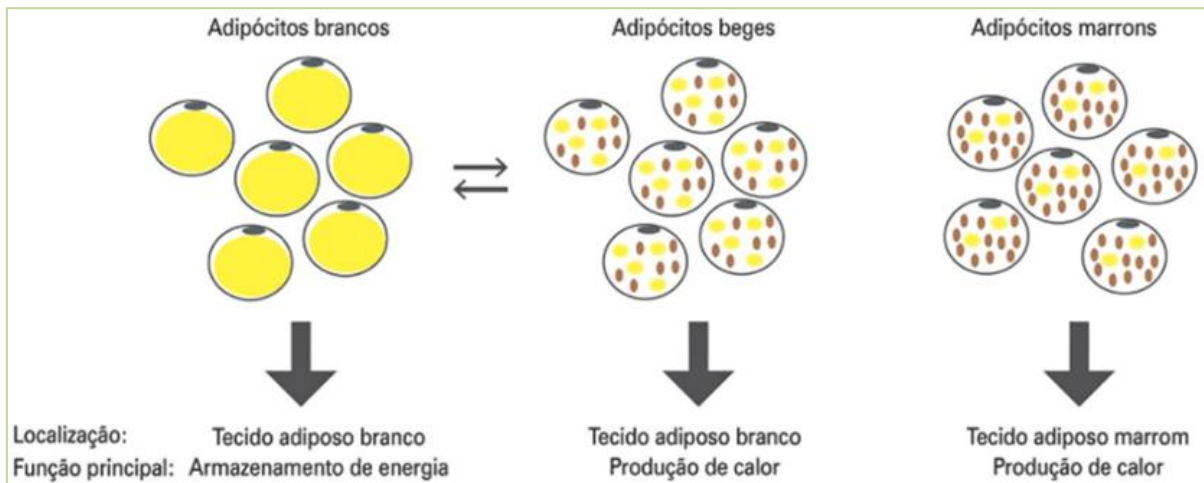
1.4 Tecido adiposo

O tecido adiposo é reconhecido como uma estrutura biologicamente ativa (SINGLA, *et al.*, 2010; KWON e PESSIN, 2013), possuindo funções de grande relevância ao funcionamento orgânico, como: (i) capacidade de sustentação e proteção corporal; (ii) defesa orgânica (KWOK *et al.*, 2016); (iii) estocagem de energia (SINGLA *et al.*, 2010; KWON e PESSIN, 2013); (iv) função hormonal e secreção de mediadores do processo inflamatório (ZHANG *et al.*, 1994) e (v) envolvimento em ações metabólicas (SINGLA, *et al.*, 2010; KWON e PESSIN, 2013). Este tecido é classificado de acordo com sua disposição orgânica como, tecido adiposo subcutâneo (superficial e profundo) e tecido adiposo visceral (KWOK *et al.*, 2016) e segundo as variedades de adipócitos, que podem ser brancos (uniloculares), marrons (multiloculares) (VIRTANEN *et al.*, 2009; SAELY *et al.*, 2012; ADAMCZAK e WIECEK, 2013) ou beges (“*brites*”) (WU *et al.*, 2013) (**Figura 4**).

O tecido adiposo branco (TAB), principal local de estoque de gordura corporal em mamíferos (PICARD e AUWERX, 2002; PICARD *et al.*, 2004), está amplamente distribuído no organismo em grandes depósitos nas regiões subcutânea abdominal superficial e profunda, e glúteo-femoral, bem como no coração, em grupamentos

musculares e no mesentério. TAB é hábil no armazenamento de gordura, na regulação da homeostase de glicídios e lipídios e na secreção de diversas adipocitocinas pró-inflamatórias. Os adipócitos do TAB são quase totalmente compostos por apenas uma única grande gota lipídica (KWOK *et al.*, 2016; SANCHEZ-GURMACHES *et al.*, 2016).

FIGURA 4 - VARIEDADE, LOCALIZAÇÃO E PRINCIPAL FUNÇÃO DE ADIPÓCITOS



Legenda: De acordo com os tipos específicos de adipócitos, que podem ser brancos, beges ou marrons, notam-se diferenças nos depósitos de gordura e no número de mitocôndrias, como fatores determinantes de sua função orgânica, como na capacidade no armazenamento de gordura e na produção de calor. Adaptado de Magdalon e Festuccia; *Einstein* 2017; 15.

Encontrado, previamente, em mamíferos de pequeno tamanho e crianças, o tecido adiposo marrom (TAM) surgiu como um ajuste orgânico ao frio. Sua função básica é o controle da termogênese pela abundância de mitocôndrias resultando na maior atividade mitocondrial (CANNON e NEDERGAARD, 2004). Este tecido pode ser encontrado nas regiões abdominais superiores e mediastino, axilar, cervical, paravertebral e supraclavicular (SAELY *et al.*, 2012). Em oposição ao branco, seus adipócitos possuem menor tamanho, dispõem de pequenas gotas de gordura de tamanhos variados, notável citoplasma e numerosas mitocôndrias (KWOK *et al.*, 2016). Suas mitocôndrias expressam a proteína desacopladora 1 (UCP1, do inglês, *uncoupling protein 1*) que estimulada pela ingestão de alimentos frios ou exposição a temperaturas baixas, promove um aumento nas condições de respiração mitocondrial, produzindo calor gerado pela elevada oxidação de ácidos graxos livres e glicose (SIDOSSIS e KAJIMURA, 2015).

O adipócito bege é um fenótipo mediano, com características do adipócito branco e do marrom (HARMS e SEALE, 2013; KWOK *et al.*, 2016). Este é descrito como uma subpopulação do TAB com propriedades do TAM, pelas alterações morfofuncionais como aumento de mitocôndrias e expressão de UCP1 (CANNON e NEDERGAARD, 2004; HARMS e SEALE, 2013). O tecido adiposo bege é encontrado nas regiões axilar, cervical, paravertebral e supraclavicular (NEDERGAARD *et al.*, 2007). Na obesidade, o desenvolvimento deste tecido a partir dos adipócitos brancos, configura uma ferramenta relevante na manutenção do peso, pela eficiência do adipócito bege oxidar ácidos graxos. Há evidências de que a formação de adipócito bege a partir do branco relaciona-se a situações de hipermetabolismo e catabolismo, normalmente descritas em condições patológicas, como nas queimaduras, traumas extensos e câncer (ABDULLAHI e JESCHKE, 2016).

Em síntese, o TAB é o mais importante para a fisiopatologia da obesidade e comorbidades associadas em virtude de suas características adicionais, como por exemplo, a secreção de adipocinas e a influência na sensibilidade à insulina e no equilíbrio metabólico (CINTI, 2012).

1.5 Mecanismos fisiopatológicos associados à obesidade

1.5.1 Obesidade visceral

A obesidade, particularmente, a localizada na região abdominal, configura um dos mais importantes e aumentados fatores de risco para o desenvolvimento de mecanismos fisiopatológicos relacionados à resistência à insulina e suas complicações cardiometabólicas associadas à obesidade (BALISTRERI *et al.*, 2010; TCHERNOF e DESPRÉS, 2013), tais como: as DCV, a DM2 (OHLSON *et al.*, 1985; REXRODE *et al.*, 1998), a hipertensão arterial primária (HALL *et al.*, 2015), a doença hepática gordurosa não alcoólica (EKSTEDT *et al.*, 2006) e a síndrome metabólica (SM) (ANDERSON *et al.*, 2001; CARR *et al.*, 2004; CORNIER *et al.*, 2008; ALBERTI *et al.*, 2009).

De acordo com a Federação Internacional de Diabetes (IDF, do inglês, *International Diabetes Federation*), são vários os estudos que preconizam o ponto de corte de 80cm de circunferência de cintura para as mulheres e 90cm para os

homens, defendendo que para os habitantes da América Latina estes valores estejam mais fortemente associados aos demais critérios integrantes da SM (BERBER *et al.*, 2001; LÓPEZ-JARAMILLO *et al.*, 2007; PINZOÓN *et al.*, 2007; MANZUR *et al.*, 2008). Entretanto, ainda não existe qualquer estudo observacional nesta população demonstrando a participação desta medida no curso da DCV e diabetes (LÓPEZ-JARAMILLO *et al.*, 2013).

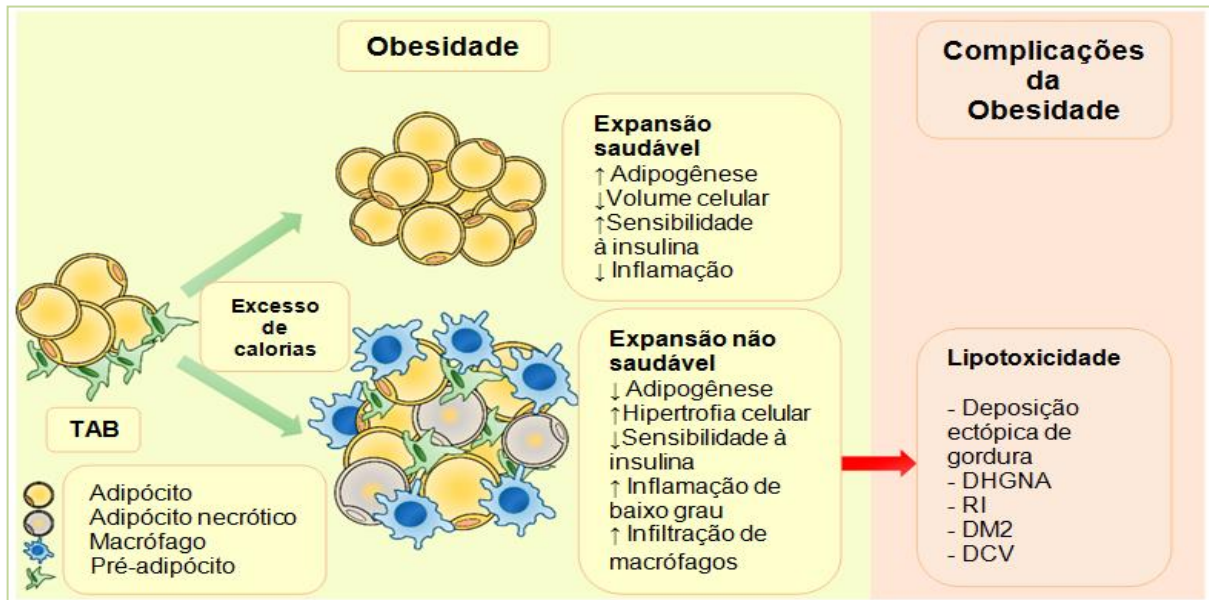
Fruto de um excesso do consumo alimentar associado à redução do gasto energético, o aumento ponderal que leva ao excesso de peso e obesidade (MUIR *et al.*, 2016), resulta em diversas modificações na estrutura e na função do tecido adiposo, caracterizando a adiposopatia (BLÜHER, 2013; CASTOLDI *et al.*, 2016). A adiposopatia é responsável pelo desenvolvimento de doenças associadas à obesidade (BLÜHER, 2013).

Com o processo de obesidade, há uma alteração patológica dos adipócitos, particularmente, no TAB. Estes, por sua vez, se tornam disfuncionais, passando a apresentar um envelhecimento precoce, uma maior taxa de apoptose e infiltração de macrófagos (TILG e MOSCHEN, 2006; ROMEO *et al.*, 2012) com um perfil pró-inflamatório (M1) (CASTOLDI *et al.*, 2016). Por consequência, uma intensa secreção de mediadores inflamatórios, tanto pelos próprios adipócitos, quanto pelos macrófagos residentes, resulta numa alteração na liberação de adipocitocinas, como a adiponectina e leptina; citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral *alfa* (TNF- α , do inglês, *tumor necrosis factor alpha*), interleucina 6 (IL-6) e ligante de quimiocina 2 (CCL2, também conhecido como proteína quimioatrativa1 de monócitos - MCP1) e de fatores derivados de macrófagos, como a Interleucina1 *beta* (IL-1 β) e a resistina (TILG e MOSCHEN, 2006; ROMEO *et al.*, 2012).

Do ponto de vista morfofuncional, no aumento saudável do TAB ocorre somente a hiperplasia de adipócitos, que tem caráter protetor das alterações metabólicas relacionadas à obesidade. Já no aumento não saudável, há uma associação entre hiperplasia e hipertrofia, como consequência de um excesso calórico extra, que excede a capacidade de reserva no TAB, gerando uma lipotoxicidade, e consequente deposição de gordura na região visceral, e em tecidos como o coração, fígado e músculo esquelético. Neste sentido, uma elevada ingestão calórica e consequente deposição ectópica excessiva de gordura favorecem uma inflamação crônica de baixo grau no TAB e resistência à insulina, como observado

na **Figura 5** (RUTKOWSKI *et al.*, 2015; REILLY e SALTIEL, 2017; LONGO *et al.*, 2019).

FIGURA 5 - EFEITOS DA OBESIDADE NO TECIDO ADIPOSEO BRANCO



Legenda: Verifica-se, particularmente no tecido adiposo branco, que o excesso calórico promove um aumento tecidual de adipócitos brancos, que podem ser saudáveis ou não. No aumento saudável, observada na hiperplasia de adipócitos, há uma proteção ao organismo contra os danos metabólicos da obesidade. Em contrapartida, na hiperplasia e hipertrofia adipocitária, e consequente aumento tecidual não saudável, verifica-se uma série de distúrbios relacionados à obesidade decorrentes do processo de lipotoxicidade. TAB – Tecido adiposo branco; DHGNA – Doença hepática gordurosa não-alcoólica; RI – Resistência à insulina; DM2 – Diabetes *mellitus* tipo 2; DCV – Doenças cardiovasculares. Adaptado de Longo *et al.*, *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20: 2358.

1.5.2 Resistência à insulina e diabetes *mellitus*

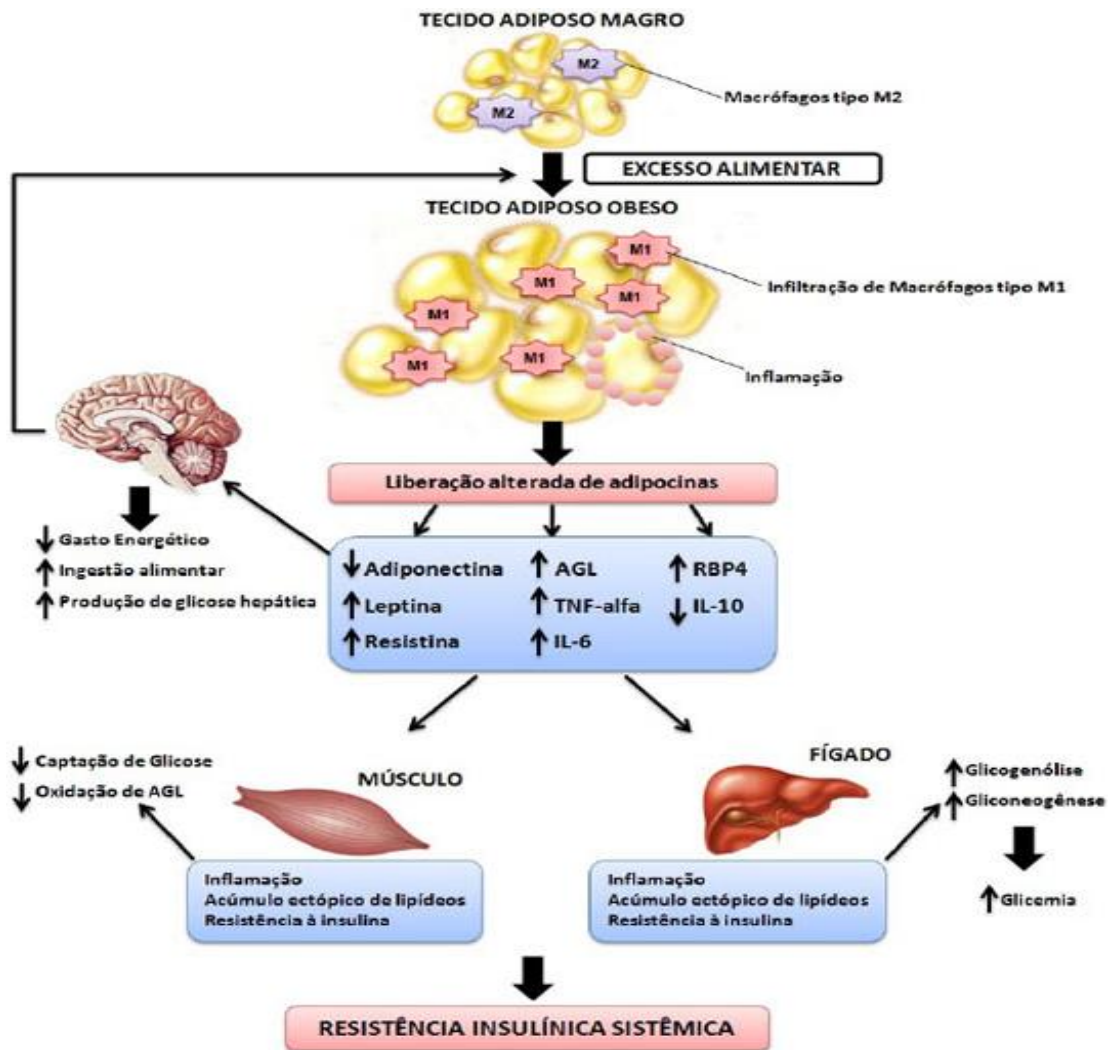
A resistência à insulina é caracterizada por uma diminuição da sensibilidade celular a este hormônio, principalmente, no tecido adiposo, fígado e musculatura esquelética, o que dificulta a ação da insulina. A insulina é um hormônio produzido e secretado pelas células *beta* pancreáticas, essencial na absorção de glicose. No quadro de resistência à insulina, observamos uma hipersecreção de insulina, de forma compensatória, na tentativa de mobilização da glicose. Em consequência, na hiperinsulinemia há um desgaste nas células *beta*, pela ineficiência e insuficiência na produção pancreática de insulina, resultando em um excesso de glicose sanguínea, a hiperglicemia, evidenciando um quadro de DM2 (ECKEL *et al.*, 2005; IDF, 2006).

A avaliação clínica da diabetes pode ser facilmente realizada a partir da medida da concentração sérica de glicose, podendo o indivíduo ser considerado

normoglicêmico ($< 100\text{mg/dL}$); pré-diabético ou com risco aumentado para o desenvolvimento da diabetes (100 a 125 mg/dL); ou diabético, na presença de uma glicemia $> 125\text{ mg/dL}$ (ADA, 2006; SBD 2022).

Mesmo antes do estabelecimento da DM2, já ocorrem danos orgânicos como um acúmulo de triglicerídeos, que comprometem ainda mais a resposta à insulina, acentuando o quadro de resistência (ECKEL *et al.*, 2005; IDF, 2006). São claras as evidências relacionando lipídios e resistência à insulina. Estudos em adultos eutróficos não diabéticos mostraram que o teor de triglicerídeos intramiocelulares foi um fator preditivo muito mais consistente da resistência à insulina no músculo que os ácidos graxos circulantes. Este estudo sugere que a resistência à insulina é mais diretamente causada pelos lipídios que se aglomeram nos tecidos sensíveis a insulina, do que pelos lipídios presentes na circulação (KRSSAK *et al.*, 1999). Uma das principais causas do desenvolvimento da resistência à insulina resulta de um excesso de ácidos graxos circulantes, geralmente advindos dos estoques de triglicerídeos liberados pelo tecido adiposo por ação enzimática, ou a partir da lipólise de lipoproteínas ricas em triglicerídeos por ação da lipoproteína lipase (ECKEL *et al.*, 2005). Neste sentido, a insulina tem importância tanto na antilipólise quanto na estimulação da lipoproteína lipase, sendo a inibição da lipólise em tecido adiposo a forma mais sensível de ação da insulina (JENSEN *et al.*, 1989). Na maioria dos indivíduos acometidos por intolerância à glicose ou DM2, esta condição está relacionada à SM, podendo acrescer o risco cardiovascular sobre a soma do risco de cada anormalidade isoladamente (SATTAR *et al.*, 2003).

O tecido adiposo tem papel relevante na regulação da homeostase orgânica dos ácidos graxos. Em situações de excesso calórico, há um depósito de ácido graxo livre na forma de triglicerídeos mediante a esterificação em glicerol, e na carência energética, são liberados de volta à circulação (GALIC *et al.*, 2010). Desta forma, para a manutenção corporal dos níveis de glicose, o tecido adiposo desvia ácidos graxos, como os triglicerídeos (GUILHERME *et al.*, 2008). Nesse contexto, estudos apontam a obesidade visceral como um dos mecanismos mais importantes para o desenvolvimento da resistência à insulina e condições associadas (BALISTRERI *et al.*, 2010; TCHERNOF e DESPRÉS, 2013; SPERETTA *et al.*, 2014). A obesidade visceral pode resultar na ativação de vias metabólicas normalmente associadas ao acúmulo de gordura corporal, modificando a absorção de ácidos graxos, a lipogênese e o gasto energético (SAMUEL e SHULMAN, 2012).

FIGURA 6 - EFEITOS DA OBESIDADE NA RESISTÊNCIA INSULÍNICA SISTÊMICA

Legenda: No processo de ganho de peso, e consequente hipertrofia do tecido adiposo, fruto do consumo alimentar excessivo, verifica-se nos adipócitos, um envelhecimento precoce, maior tendência a apoptose, infiltração e proliferação de macrófagos, e modificação na secreção de adipocinas e outras moléculas, com ações no sistema nervoso, reduzindo o gasto energético, e aumentando a ingestão alimentar e a produção de glicose hepática; e uma quebra na homeostase dos tecidos do músculo esquelético e hepático, gerando uma inflamação crônica de baixo grau, acúmulo ectópico de gordura e resistência à insulina. Consequentemente, no tecido muscular há uma redução da captação de glicose e oxidação de ácidos graxos livres, e no fígado, o aumento da glicogenólise, gliconeogênese e glicemia plasmática, que associados promoverão um quadro de resistência insulínica sistêmica. AGL – Ácido graxo livre; IL-6 – Interleucina 6; IL-10 – Interleucina 10; M1 – Macrófagos M1; M2 – Macrófagos M2; RBP4 – proteína ligante de retinol 4 (do inglês, *retinol binding protein 4*); TNF-*alfa* – fator de necrose tumoral-*alfa*. Speretta et al., HUPE 2014; 13: 61-69.

Como verificado na **Figura 6**, a hipertrofia adipocitária, particularmente em tecido adiposo visceral, gera uma quebra no equilíbrio metabólico deste tecido, levando à infiltração e ativação de macrófagos, resultando num perfil pró-inflamatório (GALIC *et al.*, 2010; HEBER, 2010; GREGOR e HOTAMISLIGIL, 2011) e secreção de adipocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α e IL-6. Esse quadro inflamatório é

seguido pelo aumento na secreção de ácido graxo livre e desregulação na liberação de moléculas vindas de adipócitos e macrófagos, como leptina, adiponectina, resistina e proteína ligante de retinol 4 (RBP4, do inglês, *retinol binding protein 4*), que associadas podem agravar a inflamação do tecido adiposo, bem como afetar outros órgão e tecidos (BOURET *et al.*, 2004; AHIMA *et al.*, 2008; DE ABREU *et al.*, 2017; FRANCISCHETTI *et al.*, 2020), como o cérebro, pela ocorrência de disfunções metabólicas cerebrais como as observadas na Doença de *Alzheimer* (DEZONNE *et al.*, 2022). No geral, uma modificação na secreção de adipocinas, pode elevar a ingestão alimentar e reduzir o gasto energético por desregulação das respostas hipotalâmicas, principalmente no núcleo arqueado (BOURET *et al.*, 2004; AHIMA *et al.*, 2008). Além disto, a progressão da inflamação crônica de baixo grau, leva à diminuição na sensibilidade à insulina no músculo e no fígado (GALIC *et al.*, 2010).

1.5.3 Hipertensão arterial sistêmica

O peso excessivo, principalmente relacionado à obesidade visceral, é a causa mais relevante e aumentada de se desenvolver a hipertensão arterial, particularmente por uma elevação na reabsorção de sódio. Por sua alta prevalência global, por desencadear DCVs e doenças renais crônicas, a hipertensão arterial sistêmica (HAS) é um importante problema de saúde pública (LAWES *et al.*, 2008; KEARNEY *et al.*, 2005; GBD, 2015).

Descrita como uma alteração da pressão arterial (PA) para valores ≥ 140 e 90mmHg, a HAS em valores superiores a estes pode ser caracterizada em estágios (I, II e III), de acordo com a gravidade sendo: (i) primária, essencial ou idiopática, em cerca de 90% dos quadros, quando a PA está mais elevada que o normal sem razão aparente (LÓPEZ-JARAMILLO *et al.*, 2013), relacionando-se normalmente à uma série de alterações metabólicas, das quais se incluem entre outras, a intolerância à glicose, a dislipidemia e a obesidade (FERRANNINI e NATALI, 1991) e (ii) secundária, que acomete os últimos 10% de hipertensos, por um aumento indireto da PA, ainda assim detectável e possivelmente tratada (LÓPEZ-JARAMILLO *et al.*, 2013). Entre as diversas situações orgânicas observadas no aumento da pressão arterial relacionada à obesidade, observa-se uma elevação do tônus simpático (SOWERS *et al.*, 1982; TROISI *et al.*, 1991), constrição mecânica renal (SUGERMAN *et al.*, 1997), ativação excessiva do sistema renina-angiotensina

(REISIN *et al.*, 1997), distúrbio endotelial (RAITAKARI *et al.*, 2004) e aumento de aldosterona (DE SOUZA *et al.*, 2010).

Fisiologicamente, em pessoas normais, a insulina, um hormônio vasodilatador, promove um efeito secundário na reabsorção renal de sódio (DEFRONZO *et al.*, 1975). Em portadores de resistência à insulina, pelo menos em parte, a insulina está envolvida na gênese da sensibilidade ao sódio na hipertensão (KURODA *et al.*, 1999). Na resistência à insulina, mesmo sem o efeito vasodilatador da insulina, mantêm-se a reabsorção renal de sódio. Os estados de hiperglicemia e hiperinsulinemia estimulam o sistema renina-angiotensina desencadeando uma cascata de eventos, resultando na elevação da expressão de angiotensinogênio, angiotensina II e do receptor AT1, que relacionados podem cooperar para a evolução de um quadro de hipertensão (MALHOTRA *et al.*, 2001). Além do mais, a resistência à insulina e a hiperinsulinemia estimulam o sistema nervoso simpático (SNS) atuando sobre diferentes órgãos, aumentando a reabsorção renal de sódio e o débito cardíaco, gerando uma vasoconstrição das artérias, e conseqüentemente, hipertensão (MORSE *et al.*, 2005).

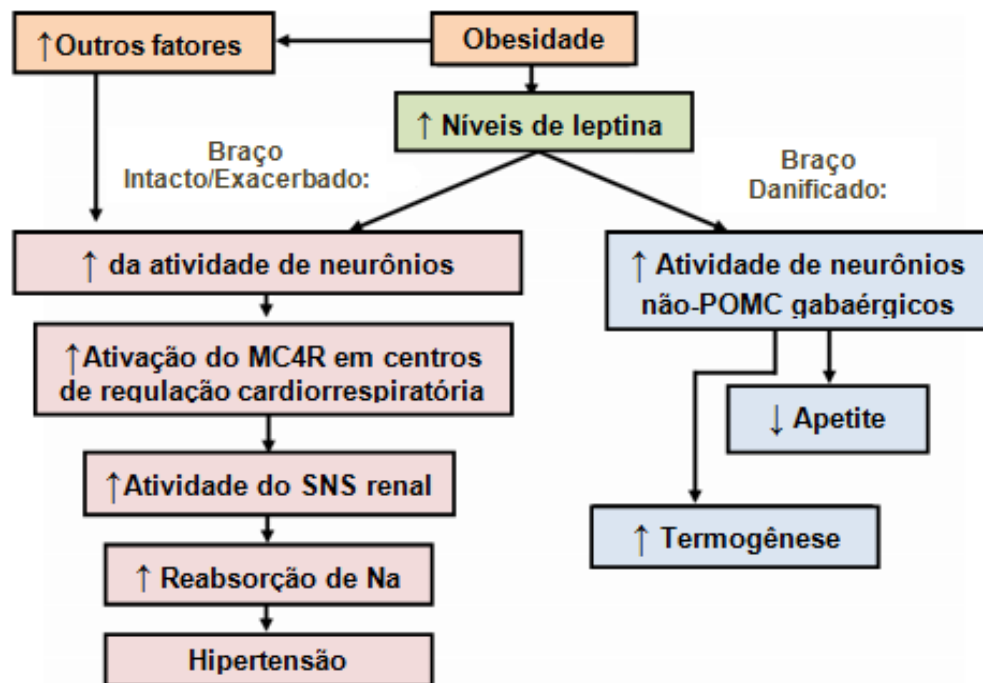
Atualmente, verificou-se que os adipócitos também produzem aldosterona (BRIONES *et al.*, 2012), funcionando com um pequeno sistema renina-angiotensina-aldosterona (KAUR *et al.*, 2014). A relação entre hipertensão e obesidade abdominal é causada provavelmente pela hiperinsulinemia e estimulação do SNS. A insulina é um importante indicador da ligação entre consumo alimentar e atividade do SNS, já que a hiperinsulinemia induz e aumenta a atividade do SNS, desencadeando uma redução na excreção renal de sódio, acarretando um aumento da PA. Neste sentido, a hipertensão relacionada à obesidade decorre de um recurso orgânico compensatório desfavorável como um mecanismo de adequação ao excesso de peso (KRIEGER e LANDSBERG, 1988).

A hiperleptinemia induzida pela obesidade pode figurar como um elemento relevante na causa de algumas destas manifestações patológicas, já que os níveis de leptina estão diretamente associados a PA (ASFERG *et al.*, 2010; SHANKAR e XIAO, 2010). A leptina, hormônio circulante proveniente de adipócitos, diretamente correlacionado à massa de tecido adiposo (CONSIDINE e CARO, 1996), apresenta-se em níveis plasmáticos mais elevados em indivíduos obesos que em magros (FREDERICH *et al.*, 1995). Além disso, podemos observar uma hipersecreção como tentativa de superar o estado de resistência à ação deste hormônio, que acompanha

a disfunção do tecido adiposo observada na obesidade (MACREADY *et al.*, 2014). Com principal ação no controle do apetite (GRILL *et al.*, 2002), independentemente do consumo alimentar, a leptina também atua no tônus simpático e na pressão sanguínea (MACHLEIDT *et al.*, 2013).

A leptina demonstra uma ligação significativa na modulação da pressão arterial, tal como em mecanismos que direcionam a hipertensão (HALL *et al.*, 2001). Esta adipocina atua no rim, promovendo um aumento na excreção renal de sódio e a produção de óxido nítrico, podendo levar a uma redução nos níveis pressóricos (FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ *et al.*, 2011), e em contraposição, pode aumentar o tônus simpático renal, nas adrenais e coração, elevando a pressão arterial (DUNBAR e LU, 1999). A atuação da leptina na ativação do SNS pode explicar sua ação na modulação na pressão arterial, estimulando um processo de vasoconstrição periférica, elevando os níveis pressóricos sistêmicos, principalmente na ocorrência de resistência ao seu desempenho, como na obesidade, em que se verifica um aumento dos níveis circulantes de leptina (MARK *et al.*, 2002).

Como observado na **Figura 7**, no excesso de ganho ponderal há uma ativação do SNS, que favorece a retenção renal de sódio e natriurese por redução na pressão. Assim, a elevação dos níveis circulantes de leptina e o estímulo do sistema de melanocortina, principalmente o receptor tipo 4 de melanocortina (MC4R- do inglês, *melanocortin 4 receptor*), configuram os elementos centrais vinculados à obesidade, atividade simpática do nervo renal e elevação da PA. Há evidências de que o centro leptina-MC4R, localizado no tronco encefálico, tenha ação potencial e específica sobre o apetite, funções cardiovasculares, e metabolismo (FRIEDMAN, 2002; BJORBAEK e KAHN, 2004; TALLAM *et al.*, 2006), podendo promover uma hiperatividade do sistema nervoso simpático renal, com aumento na reabsorção renal de sódio, e consequente hipertensão arterial (DA SILVA *et al.*, 2013).

FIGURA 7 - EFEITOS DA HIPERLEPTINEMIA NO DESENVOLVIMENTO DA HIPERTENSÃO

Legenda: Na maioria dos indivíduos obesos, há um aumento na expressão e secreção de leptina que pode atuar no controle do apetite ou na hiperatividade simpática. À direita, verifica-se a ação da leptina sobre neuropeptídeos relacionados ao controle do apetite, com o aumento de sua atividade, promovendo uma inibição do apetite e elevação da termogênese, e consequente perda de peso. À esquerda, a leptina também vai atuar em outra via intracelular, aumentando a atividade de neurônios anorexígenos e a expressão e secreção do receptor de melanocortina, especialmente o MC4R, no tronco encefálico que faz conexão com o sistema nervoso simpático, promovendo uma hiperatividade do sistema nervoso simpático renal, aumentando a reabsorção renal de sódio, o que pode elevar a pressão arterial. MC4R – Receptor tipo 4 de melanocortina (do inglês, *melanocortin4 receptor*); Na – Sódio; POMC – Pró-ópio-melanocortina; SNS – Sistema nervoso simpático. Adaptado de da Silva, et al., *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2013; 22: 135–140.

1.5.4 Dislipidemia

A dislipidemia, caracterizada por um conjunto de anormalidades no metabolismo lipídico, apresenta um aumento nos níveis plasmáticos de triglicerídeos, lipoproteínas de baixa densidade (*Low Density Lipoprotein* – LDL-C) e de lipoproteínas de densidade muito baixa (*Very Low Density Lipoprotein* – VLDL-C), e redução na concentração de lipoproteínas de alta densidade (*High Density Lipoproteins* – HDL-C) (ROBINS *et al.*, 2001, ECKEL *et al.*, 2005; SU *et al.*, 2018), e está associada a disfunções no tecido adiposo e hepático (WU *et al.*, 2015).

O desenvolvimento da dislipidemia é impulsionado principalmente pela resistência à insulina, configurando a chamada “dislipidemia metabólica”, um tipo de dislipidemia ocasionada pela combinação de resistência à insulina e obesidade

(BLÜHER, 2013; KLOP *et al.*, 2013; CASTOLDI *et al.*, 2016). A dislipidemia configura um fator de risco causal para as DCV, já que quando LDL-C plasmático atinge níveis excessivos, ele pode ser fagocitado por macrófagos e incorporado na região subendotelial, relacionada a uma série de situações da cascata da aterosclerose (AZUSHIMA *et al.*, 2017).

Do ponto de vista molecular, são descritas uma série de apolipoproteínas permutáveis, como a apolipoproteína A1 (ApoA1), apolipoproteína A5 (ApoA5), apolipoproteína E (ApoE) e apolipoproteína C3 (ApoC3) (LIAO *et al.*, 2018; SU e PENG, 2020), sintetizadas e secretadas principalmente, a partir de hepatócitos ou adipócitos (LIAO *et al.*, 2018), duas principais variedades de células lipogênicas da homeostase lipídica humana (SU e PENG, 2020).

As apolipoproteínas são moléculas com ações intracelulares fundamentais na modulação do metabolismo lipídico e no equilíbrio plasmático e celular, podendo influenciar no desenvolvimento da dislipidemia e nas disfunções cardiometabólicas associadas a alterações nos tecidos adiposos e hepáticos (LIAO *et al.*, 2018; SU e PENG, 2020). O que se observa, é que em células adiposas, sob condição orgânica normal, uma liberação regular de lipídios promove a homeostase energética, enquanto na obesidade, os adipócitos hipertrofiados provocam uma liberação de altos níveis de ácidos graxos livres circulantes. Já nos hepatócitos, em condição normal, há uma liberação regular de lipídios favorecendo o equilíbrio energético, ao passo que na obesidade, um aumento na captação hepática de lipídeos provoca um desequilíbrio energético (SU e PENG, 2020).

1.5.5 Síndrome metabólica

Expressão definida primariamente, entre outras, como Síndrome X (REAVEN, 1988), quarteto da morte (KAPLAN, 1989), Síndrome da Resistência à Insulina (DEFRONZO e FERRANNINI, 1991; STERN, 1994), a Síndrome Metabólica (ALBERTI *et al.*, 1998; WHO, 1999), denominação utilizada atualmente em todo o mundo e atualizada em consenso internacional (ALBERTI *et al.*, 2009), serve para descrever a ocorrência de uma série de transtornos metabólicos, que ao aparecerem unidos, podem determinar consequentemente o acometimento por DCV e DM2 (GRUNDY *et al.*, 2005).

Seu diagnóstico clínico é determinado pela presença, em um mesmo indivíduo, de pelo menos três dos cinco critérios, e seus pontos de corte estabelecidos como fatores de risco para a ocorrência da SM, como apresentados no **Quadro 2**: (i) obesidade abdominal, separado por gênero e de acordo com a etnia; (ii) triglicerídeos; (iii) HDL-C, separado por gênero; (iv) PA; (v) glicemia de jejum (CORNIER *et al.*, 2008; ALBERTI *et al.*, 2009; HARRIS, 2013; GRUNDY, 2016; NOLAN *et al.*, 2017).

QUADRO 2 - CRITÉRIOS ESTABELECIDOS PARA O DIAGNÓSTICO DE SÍNDROME METABÓLICA (SM)

Fatores de Risco	Nível de Definição
Obesidade abdominal (circunferência abdominal) Limites específicos que consideram diferentes populações e países Homens Mulheres	$\geq$ a 90 cm* $\geq$ a 80 cm
Triglicerídeos **	$\geq$ a 150mg/dL
HDL- colesterol ** Homens Mulheres	< 40mg/dL < 50mg/dL
Pressão arterial **	$\geq$ 130 / $\geq$ 85mmHg
Glicose em jejum **	$\geq$ 100 mg/dL
*América Central e América do Sul ** Ou em tratamento para o fator de risco	

Legenda: Nota-se que embora sejam descritos cinco fatores de risco, a ocorrência de apenas três destes, em um mesmo indivíduo, já é suficiente para o estabelecimento do diagnóstico clínico da síndrome metabólica (SM). Adaptado de Alberti *et al.*, *Circulation* 2009; 120: 1640-1645.

A SM é marcada pela associação de uma série de fatores fisiológicos, como obesidade, hipertensão, dislipidemia, inflamação (GRUNDY *et al.*, 2005; LUCHSINGER, 2006), intolerância à glicose, diabetes, DCV (WILSON *et al.*, 2005; DE ABREU *et al.*, 2017; FRANCISCHETTI *et al.*, 2020), aterosclerose, AVC, câncer e artrite (GUARENTE, 2006). Embora sua patogênese e de seus componentes sejam complexos e parcialmente elucidados, sugere-se que a resistência à insulina e a obesidade, particularmente a visceral, sejam os fatores causais centrais para as diversas anormalidades clínicas relacionadas ao seu desenvolvimento (ANDERSON

et al., 2001; CARR *et al.*, 2004; CORNIER *et al.*, 2008; ALBERTI *et al.*, 2009). Parece que o excesso de gordura visceral seja o gatilho inicial da SM, já que a obesidade está relacionada a inúmeras condições de risco metabólico (CAMERON *et al.*, 2008). Além destes, destacam-se a predisposição genética, o envelhecimento, a inatividade física, o desequilíbrio hormonal (ANDERSON *et al.*, 2001), o tabagismo e o consumo alimentar hipercalórico (SMITH e RYCKMAN, 2015).

Há evidências de que a SM e a restrição calórica avancem por vias de equilíbrio distintas, podendo ser moduladas pelo padrão dietético e de atividade física, pendendo assim para qualquer um dos lados, mostrando que elementos reguladores podem interferir na intolerância à glicose e na obesidade (GUARENTE, 2006).

De acordo com Hales e Barker (1992), é possível que o “fenótipo econômico”, uma resposta orgânica a exposições ocorridas em período pré e perinatal como a desnutrição gestacional, seja capaz de determinar modificações estruturais e metabólicas em fetos no período de desenvolvimento, causando inúmeras doenças crônicas em sua idade adulta. Neste sentido, fatores como obesidade materna, problemas gestacionais e alimentação no período pré e pós-natal, são capazes de gerar um ambiente intrauterino inadequado, motivando além destas mudanças estruturais e metabólicas, a ocorrência de alterações epigenéticas (SMITH e RYCKMAN, 2015). Estruturalmente, estas transformações tendem a gerar danos celulares e teciduais, e do ponto de vista químico, podem motivar variações nas respostas celulares. Caso estes estímulos apareçam combinados, agrava-se o risco de se desenvolver a SM e as doenças crônicas, como obesidade e diabetes (KOLEGANOVA *et al.*, 2009; KAJANTIE *et al.*, 2015; FRANCISCHETTI *et al.*, 2020), e em disfunções cerebrais, como na Doença de *Alzheimer* (DEZONNE *et al.*, 2022). Em geral, estas disfunções orgânicas estão associadas a modificações epigenéticas, capazes de promover uma modificação na expressão gênica (NISTALA *et al.*, 2011).

1.6 miRNAs e Obesidade

O desenvolvimento da obesidade e, conseqüentemente de suas comorbidades, pode ser determinado pela interação entre componentes genéticos e epigenéticos (DABELEA *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2010; MARTINEZ *et al.*, 2012).

Neste sentido, os miRNAs se destacam como moléculas com grande participação na regulação gênica (BARTEL, 2004; AHN *et al.*, 2013; HILTON *et al.*, 2013), apresentando-se como ferramentas sinalizadoras para o prognóstico, diagnóstico precoce, e terapêutica da obesidade e de suas complicações cardiometabólicas associadas (VILLARD *et al.*, 2015).

Primariamente descritos como silenciadores pós-transcricionais, na degradação de RNAs mensageiros (mRNA) e na inibição da tradução de mRNAs específicos (BARTEL, 2004; CULLEN, 2004), os miRNAs, são pequenas moléculas de ácido ribonucleico (RNAs), evolutivamente conservados, não-codificantes, que possuem entre 21 e 25 nucleotídeos (BARTEL, 2004; AHN *et al.*, 2013; HILTON *et al.*, 2013). Apresentam importante função na regulação da expressão gênica a nível pós-transcricional (BARTEL, 2004; AHN *et al.*, 2013), inibindo a tradução, por vários mecanismos (MORENO-MOYA *et al.*, 2014). Quanto à localização, os genes de miRNAs podem ser identificados por todo genoma, comumente no interior de íntrons de genes codificadores de proteínas, e de forma mais esporádica em éxons (RODRIGUÉZ *et al.*, 2004). Supõe-se que cerca de 30% dos genes humanos podem ser regulados por miRNAs (HOBERT, 2008; NEILSON e SHARP, 2008).

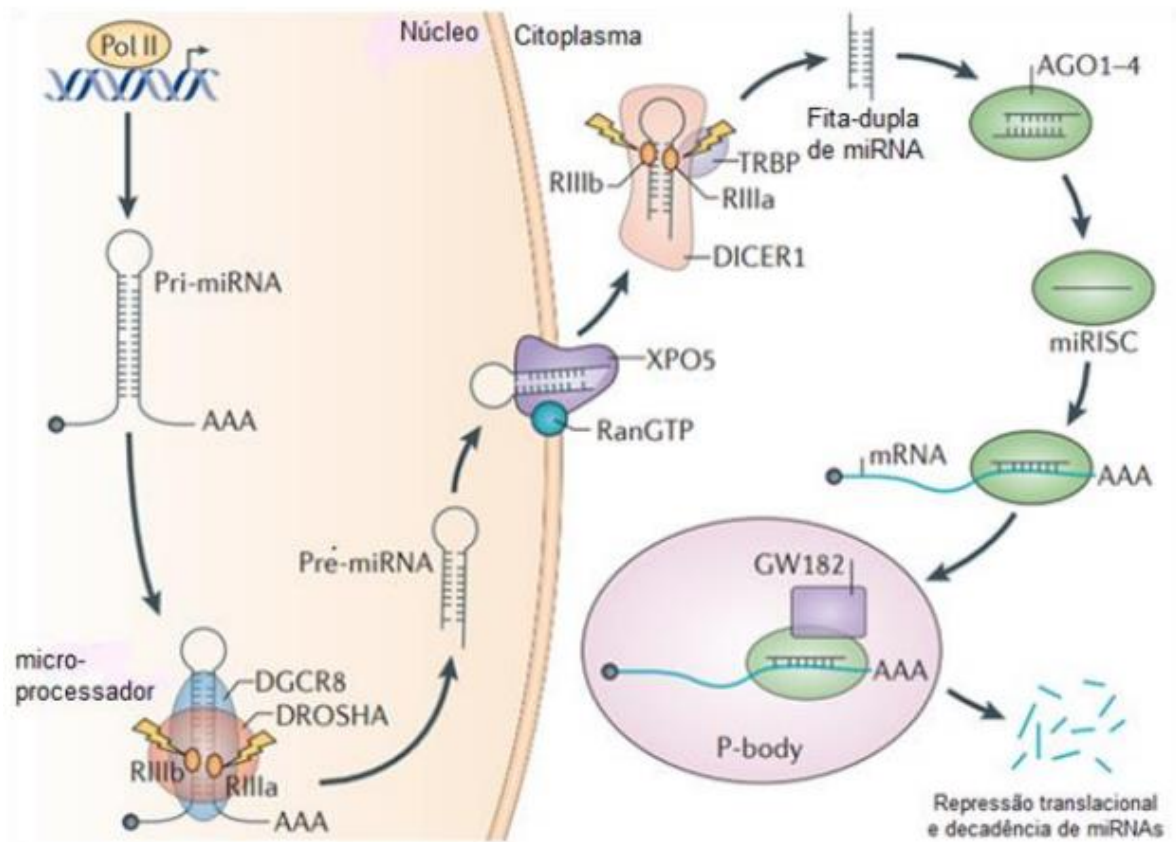
O primeiro miRNA descrito foi o *lin4* (do inglês, *lineage deficient 4*) em 1993, a partir de experimentos com o desenvolvimento do nematódeo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) (LEE *et al.*, 1993). Nos últimos anos, os miRNAs foram confirmados como biomarcadores prognósticos e reguladores das atividades celular e fisiológica (PALMER *et al.*, 2014) possuindo participação em diversos processos biológicos indispensáveis, como diferenciação, proliferação e apoptose celular, no equilíbrio metabólico (BARTEL, 2004; MORENO-MOYA *et al.*, 2014), na composição de tecidos e na adipogênese (XU *et al.*, 2003; XIE *et al.*, 2009) e estão relacionados com a ocorrência de diversas patologias, como a obesidade (ALVAREZ-GARCIA e MISKA, 2005; KRUTZFELDT e STOFFEL, 2006).

1.7 Biossíntese de miRNAs

A biossíntese de miRNAs ocorre a partir da sua transcrição nuclear pela enzima RNA polimerase II, majoritariamente, originando transcritos primários, os pri-miRNAs. Ainda no núcleo celular, os pri-miRNAs sofrem clivagem pelas enzimas

RNase III, “Drosha” e “Pasha” (conhecida também por DGCR8, do inglês, *DiGeorge syndrome critical region gene 8*) dando origem aos pré-miRNAs, moléculas com aproximadamente 70 nucleotídeos, precursoras do miRNA maduro (LEE *et al.*, 2002; LEE *et al.*, 2003; DENLI *et al.*, 2004; GREGORY *et al.*, 2004). Por apresentarem uma complementariedade interna, essas moléculas adotam uma forma termodinamicamente favorável, como um grampo de cabelo (*hairpin*). Os pré-miRNAs também são dotados de modificações comuns aos RNA mensageiros, tais como *cap* 5' e de uma cauda poli-A, em sua maioria (LEE *et al.*, 2004).

O transporte para o citosol é realizado através da proteína de transporte nuclear exportina 5 (Exp5), uma Ran-GTPase (YI *et al.*, 2003; BOHNSACK *et al.*, 2004; LUND *et al.*, 2004). Uma vez no citosol, eles sofrem outra clivagem pela enzima DICER, da família das RNase III, formando miRNAs de dupla fita com cerca de 22 nucleotídeos (BERNSTEIN *et al.*, 2001; KETTING *et al.*, 2001). Ocorre então a separação destas duas cadeias, e apenas a fita principal do miRNA maduro é reconhecida e integrada a um complexo multimérico de silenciamento, induzido por RNA, chamado de RISC (do inglês, *RNA-induced silencing complex*), cujas principais proteínas são as Argonautas (AGO). Assim, o miRNA é capaz de controlar a expressão gênica de maneira pós-transcricional (SCHWARZ *et al.*, 2003; SIOMI e SIOMI, 2010), a partir do pareamento incompleto de bases com a região 3' não traduzida (3' UTR – do inglês, *3'-untranslated region*) do RNA mensageiro (WU *et al.*, 2010). Uma vez formado o complexo RISC - miRNA maduro, ele irá identificar o seu RNA alvo, promovendo a sua degradação e/ou inativação, consequentemente, suprimindo o processo de tradução (DERGHAL *et al.*, 2016) (**Figura 8**). Um miRNA pode ter mais de 100 alvos distintos, assim cada RNA mensageiro pode ser alvo de diversos miRNAs (BARTEL, 2004; SELBACH *et al.*, 2008).

FIGURA 8 - ETAPAS DO PROCESSO DE BIOSÍNTESE DE MIRNAS EM MAMÍFEROS

Legenda: O processo de transcrição tem início no núcleo celular, a partir da RNA Polimerase II que dará origem a um precursor primário, o pri-miRNA. Ainda no núcleo celular, o pri-miRNA é clivado por um complexo nuclear constituído DROSHA e seu cofator, DGCR8, originando uma molécula precursora do miRNA maduro, o pré-miRNA. O pré-miRNA é exportado para o citoplasma pela Exportina-5, onde é clivado pela DICER1, originando a uma fita dupla de miRNAs maduros. Ocorre então, a separação dos dois filamentos, e uma das fitas do miRNA maduro é reconhecida e incorporada ao complexo RISC, que contém as proteínas Argonautas. Assim, o filamento único de miRNA vai controlar a expressão pós-transcricional de genes-alvo, a partir do pareamento incompleto de bases com a UTR 3' promovendo sua degradação e/ou inativação de sua tradução. DICER1 – Enzimas do RNase III; DGCR8 – Gene 8 da região crítica da síndrome de *DiGeorge*; DROSHA – Enzima RNase III de cadeia dupla; Pol II – RNA polimerase II; RISC – Complexo de silenciamento induzido por RNA; RILB – RNA mensageiro; 3' – Região 3' não traduzida; 5' – Região 5' não traduzida. Adaptado de Lin e Gregory, *Nature reviews cancer* 2015; 15: 321-333.

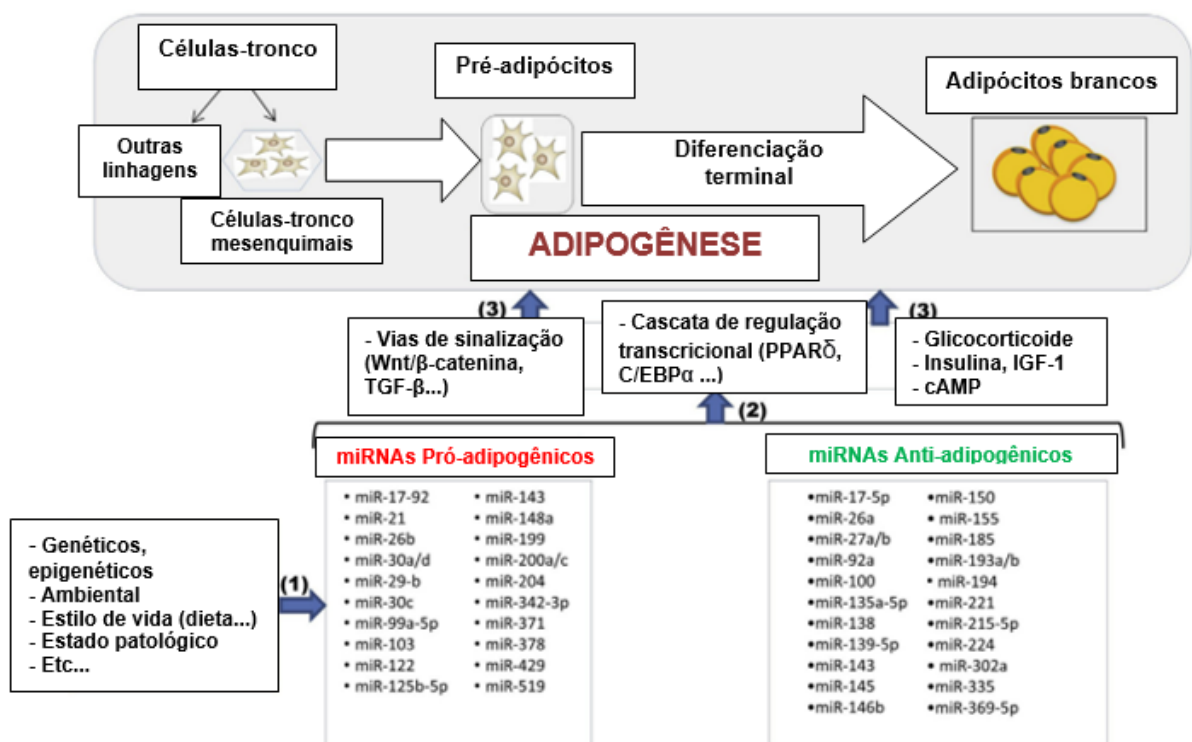
1.8 miRNAs e seu papel regulatório na obesidade

O tratamento atual da obesidade, compreende não somente reduzir o peso corporal, mas principalmente, minimizar o risco de complicações associadas à doença, o que motiva a busca constante de terapias inovadoras. Neste sentido, crescem as evidências que relacionam a desregulação no padrão da expressão de miRNAs à adipogênese e obesidade. Assim, os miRNAs, constituem um alvo oportuno e promissor ao desenvolvimento de novos e eficazes tratamentos medicamentosos, pelas importantes ações dos miRNAs já descritas no tecido

adiposo, incluindo, o controle da adipogênese; escurecimento do tecido adiposo; processos fisiológicos como, a lipólise e síntese de adipocinas; e disfunções relacionadas à obesidade, como a atividade pró-inflamatória e a resistência à insulina (ZAIYOU *et al.*, 2018; KURYLOWICZ, 2021).

A adipogênese pode ser regulada por diversos fatores moleculares, entre eles, hormônios circulantes, fatores de transcrição, fatores de crescimento, e ações relativas a vias de sinalização. Como observado na **Figura 9**, já é evidente a ocorrência de um prejuízo na diferenciação de adipócitos na obesidade; que durante o desenvolvimento de um estado obeso, os pré-adipócitos apresentam um perfil alterado na expressão de miRNAs; e que diversos miRNAs influenciam a regulação da adipogênese, com ações pró ou anti-adipogênicas, segundo o papel de seus alvos (ZAIYOU *et al.*, 2018).

FIGURA 9 - VISÃO GERAL DE MIRNAS RELACIONADOS À REGULAÇÃO DA ADIPOGÊNESE



Legenda: Diversos são os fatores (1) capazes de afetar a expressão de miRNAs pró e anti-adipogênicos, que em contra partida, promovem consecutivamente, o estímulo de hormônios e de vias de sinalização (2), que regulam etapas distintas da adipogênese (3). Adaptado de Zaiyou *et al*, *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 2018; 28: 91-111.

Embora encontrados em maior parte no interior celular, os miRNAs também já estão amplamente identificados e descritos em diversos fluidos corporais, como no plasma e soro sanguíneo, na saliva, na urina, e no líquido (MORENO-MOYA *et al.*, 2014). Os miRNAs despontam como moléculas favoráveis ao prognóstico de doenças e a sua detecção no sangue periférico, tem sido comumente utilizada, pois são estáveis nesse tipo de material biológico (TIEDT *et al.*, 2017). Ativamente liberados na região extracelular, os miRNAs encontram-se normalmente associados às partículas de HDL-C ou englobados em microvesículas, estruturas apoptóticas e exossomos (ZHAO *et al.*, 2017).

Dos miRNAs descritos em fluidos biológicos corporais, muitos são encontrados em moléculas chamadas exossomos (pequenas vesículas extracelulares), funcionando como moléculas sinalizadoras, secretadas por diversos tipos celulares (GUAY *et al.*, 2017). Assim, os miRNAs circulantes possuem uma função hormonal, possibilitando a comunicação a longa distância entre diferentes tipos celulares, e com isso controlando a expressão gênica da célula receptora (ROME, 2015).

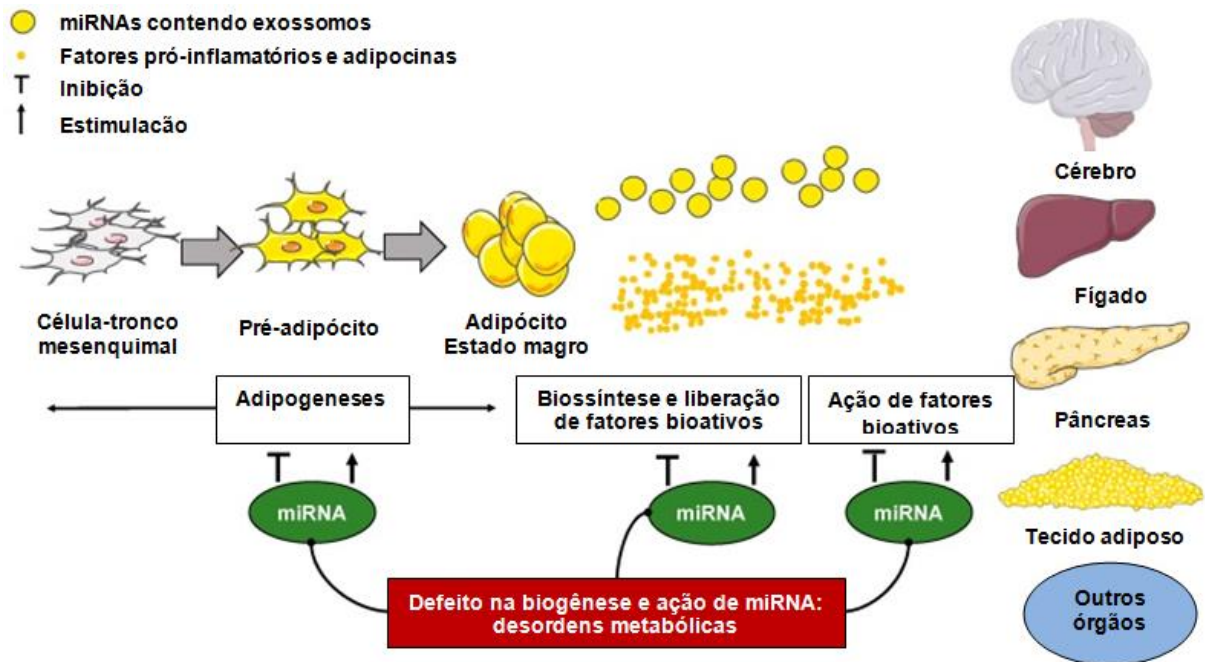
As vesículas extracelulares têm importante papel na alteração metabólica relacionada à patogênese de diversas doenças associadas à obesidade (HUANG-DORAN *et al.*, 2017), como os distúrbios cardiometabólicos (PÁRRIZAS e NOVIALS, 2016; CALDERARI *et al.*, 2017), pois são capazes de modular variadas vias de sinalização (HUANG-DORAN *et al.*, 2017). Na musculatura esquelética, as vesículas extracelulares provenientes de tecido adiposo são capazes de modular vias de sinalização de insulina, favorecendo a ocorrência da resistência sistêmica à insulina relacionada à obesidade (ASWAD *et al.*, 2014; HUANG-DORAN *et al.*, 2017). No tecido pancreático, uma secreção local de vesículas extracelulares pelas células *beta* pancreáticas pode amenizar a proliferação celular e a inflamação tecidual (PALMISANO *et al.*, 2012; FIGLIOLINI *et al.*, 2014; GUAY *et al.*, 2015; HUANG-DORAN *et al.*, 2017). Já as vesículas extracelulares de adipócitos e macrófagos do tecido adiposo, são capazes de favorecer a regulação metabólica, hiperplasia e/ou inflamação de células *beta* pancreáticas (DENG *et al.*, 2009; HUANG-DORAN *et al.*, 2017). No tecido hepático, vesículas extracelulares secretadas por hepatócitos, como um indicativo de lipotoxicidade, favorecem um acúmulo local de macrófagos, inflamação e fibrose (KORNEK *et al.*, 2012; HUANG-DORAN *et al.*, 2017). As vesículas extracelulares vindas de adipócitos podem migrar também para o fígado

regulando vias de sinalização relacionadas ao metabolismo, inflamação e fibrose, colaborando para as fases iniciais da esteatose hepática não alcoólica (KOECK *et al.*, 2014; HIRSOVA *et al.*, 2016; HUANG-DORAN *et al.*, 2017).

Os reguladores inflamatórios secretados por macrófagos ativados e exossomos oriundos de macrófagos, promovem a estimulação de uma inflamação local e sistêmica e a supressão da sinalização da insulina em miócitos, adipócitos e hepatócitos (KRANENDONK *et al.*, 2014a; KRANENDONK *et al.*, 2014b; ZHANG *et al.*, 2015; HUANG-DORAN *et al.*, 2017). Adipócitos hipertrofiados, repletos de lipídios, secretam vesículas extracelulares, modulando localmente a lipogênese e a produção de gotículas lipídicas em adipócitos adjacentes saudáveis (MÜLLER *et al.*, 2011; HUANG-DORAN *et al.*, 2017).

Uma modificação na expressão de miRNAs pode, potencialmente, promover alterações na expressão de genes com papéis cruciais na homeostase de diversos processos biológicos, como a adipogênese, a inflamação do tecido adiposo, o metabolismo de lipídeos e a resistência à insulina (LANDRIER *et al.*, 2019). Por exemplo, o processo de diferenciação de adipócitos é indispensável no armazenamento de gordura corporal (GREGOIRE *et al.*, 1998). O que se observa no desenvolvimento da obesidade, é uma transformação e expansão do volume de tecido adiposo decorrente de uma associação de hipertrofia e hiperplasia (**Figura 10**) (AVRAM *et al.*, 2007; NISHIMURA *et al.*, 2007).

FIGURA 10 - AÇÃO REGULATÓRIA DOS MIRNAS NA ADIPOGÊNESE



Legenda: Com ação hormonal, o tecido adiposo secreta vesículas, os exossomos, contendo miRNAs, que atuam na comunicação celular, em diversos órgãos. Uma modificação na expressão de miRNAs pode promover alterações em genes com papéis cruciais na homeostase de uma grande variedade de processos fisiológicos e patológicos, regulando a adipogênese, biossíntese, liberação e ação de fatores bioativos derivados do tecido adiposo, como os fatores inflamatórios, adipocinas e exossomos. E como na obesidade há uma maior liberação de exossomos, o tecido adiposo pode modular a partir de miRNAs, a expressão de genes localizados em outros órgãos metabólicos. Adaptado de Landrier et al., *Cells* 2019; 8: 859.

Apesar da escassez de estudos relacionando a expressão de miRNAs e adipogênese, a descoberta de que a falta ou aumento da enzima *Drosha*, indispensável na maturação de miRNAs suprimiu a diferenciação de adipócitos (WANG et al., 2008), levou à hipótese de uma influência dos miRNAs na adipogênese (ROMAO et al., 2011). Mais recentemente, estas moléculas têm sido identificadas na modulação da expansão do tecido adiposo, atuando como desreguladores da *Dicer*, provocando uma redução considerável de TAB e da lipodistrofia (MORI et al., 2014; TORRIANE et al., 2016). Já é conhecida a relação dos miRNAs com o processo de diferenciação de adipócitos brancos em marrons (KARBIENER e SCHEIDELER, 2014; ARNER et al., 2015), no metabolismo de lipídeos e em patologias, como na obesidade e na diabetes (KARBIENER et al., 2009; PENG et al., 2014).

Neste sentido, destacamos a seguir, a importante participação de miR-125b-5p, miR-370-3p e miR-574-3p, objetos de nosso estudo, em diversos trabalhos de

grande relevância para o entendimento sobre o envolvimento destas moléculas em diversas patologias.

1.8.1 miR-125b-5p

Das variedades mais relevantes de miRNAs, destacamos a família de miR-125, uma classe de miRNAs bastante conservada em várias espécies que vão de nematódeos a primatas (SUN *et al.*, 2013). A família miR-125 é constituída por três homólogos (hsa-miR-125a, hsa-miR-125b-1 e hsa-miR-125-2) com características supressoras ou indutoras do desenvolvimento de diversos tumores (MATTIE *et al.*, 2006; HUANG *et al.*, 2011; FERNANDO *et al.*, 2012; JIA *et al.*, 2012) e em outras comorbidades, como no lúpus eritematoso sistêmico (ZHAO *et al.*, 2010), no AVC isquêmico (LUKIW e POGUE, 2007; RINK e KHANNA, 2010) e na doença de Alzheimer (LUKIW e ALEXANDROV, 2012). Quanto à localização, temos: miR-125a encontra-se no cromossomo 19, na posição 19q13; o miR-125b é transcrito em duas áreas identificadas no cromossomo 11, 11q23 o hsa-miR-125b-1 e no cromossomo 21, 21q21 o hsa-miR-125b-2 (RODRIGUEZ *et al.*, 2004). Além disso, o miR-125b-1 está envolvido em algumas translocações cromossômicas como t (11; 14) (q24; q32) e t (2; 11) (p21; q23) relacionados, respectivamente, à leucemia linfóide aguda de células B ou mielodisplasia, e leucemia mieloide aguda (BOUSQUET *et al.*, 2008; CHAPIRO *et al.*, 2010; TASSANO *et al.*, 2010). Todos os integrantes da família exercem funções na diferenciação, proliferação e apoptose celular (BOUSQUET *et al.*, 2012), na defesa imunológica, sobretudo como resposta a infecções (bacterianas ou virais), e doenças, como o câncer (SUN *et al.*, 2013).

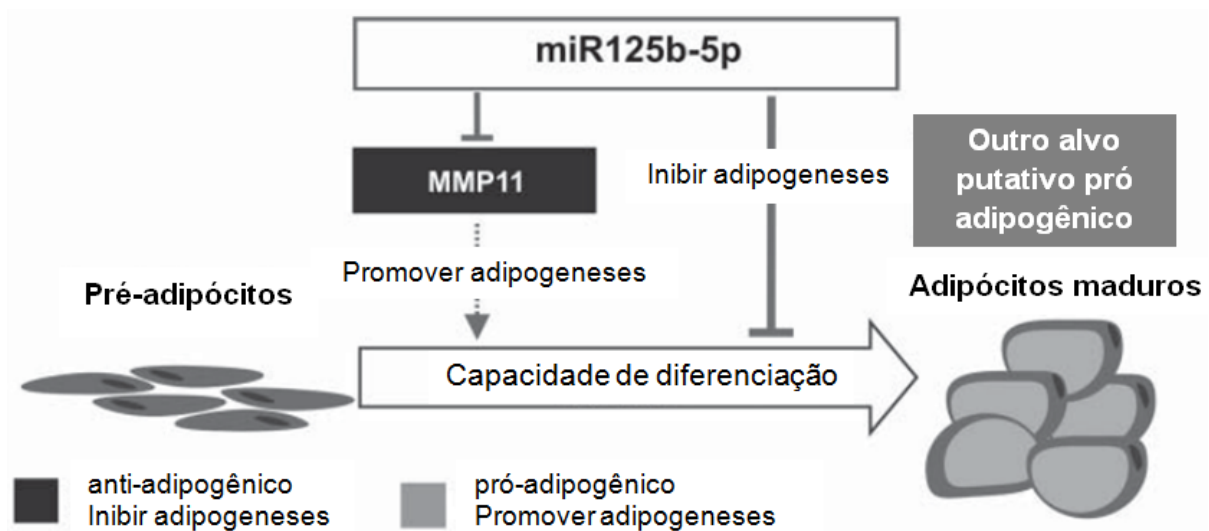
Quanto ao miR-125b-5p, sua expressão está associada à diversas patologias: em doenças inflamatórias, como na artrite reumatóide (CASTRO-VILLEGAS *et al.*, 2015); infecciosas, como nas causadas pelo vírus da hepatite E (HARMS *et al.*, 2020); em vários tipos de câncer, como no mieloma múltiplo e no tumor de mama (JIANG *et al.*, 2018; INCORONATO *et al.*, 2019); e na endometriose (COSAR *et al.*, 2016; NISENBLAT *et al.*, 2019; VANHIE *et al.*, 2019).

Ao miR-125b-5p é atribuída uma função notável no desenvolvimento de adipócitos brancos e marrons. Há uma regulação negativa na expressão de miR-125b-5p em tecido adiposo durante o desenvolvimento e atividade de adipócitos beges, além de comparativamente, expressão de miR-125b-5p em níveis mais

baixos em adipócitos marrons, que em brancos, em humanos e roedores. Ocorre uma redução dos níveis de miR-125b-5p com o escurecimento, em oposição à expressão de UCP1 (GIROUD *et al.*, 2016; GOODY e PFEIFER, 2019). No uso de imitadores ou inibidores de miR-125b-5p em adipócitos brancos, observou-se respectivamente, uma repressão no desenvolvimento de adipócitos beges e da biogênese mitocondrial, ou aumento do estímulo de UCP1, e consequente escurecimento (ZHANG *et al.*, 2014; GIROUD *et al.*, 2016; GOODY e PFEIFER, 2019).

Neste sentido, na avaliação de possíveis miRNAs relacionados à adipogênese em humanos e seus alvos moleculares, encontramos o miR-125b-5p como um possível influenciador da adipogênese. miR-125b-5p é capaz de regular negativamente a atividade da enzima metaloproteinase de matriz 11 (MMP-11, do inglês, matrix metalloproteinase 11) que possui ação anti-adipogênica. miR-125b-5p, quando superexpresso, foi capaz de diminuir significativamente MMP-11, promovendo um acúmulo de gordura. Contudo, provavelmente por mecanismos compensatórios, ele é capaz de inibir a adipogênese por outras vias (Figura 11) (ROCKSTROH *et al.*, 2016).

FIGURA 11 - INFLUÊNCIA DE MIR-125b-5p EM CÉLULAS ADIPOSAS



Legenda: Em células adiposas, miR-125b-5p pode ter ação inibidora e promotora da adipogênese. Uma superexpressão de miR125b-5p, promove a adipogênese por atuar intimamente sobre MMP-11, enzima com ação anti-adipogênica; e inibe a adipogênese por regular outros alvos promotores de adipogênese. MMP11 - Metaloproteinase de matriz 11. Rockstroh *et al.*, *Adipocyte* 2016; 5: 283-297.

Diversos estudos descrevem a participação dos miRNAs no metabolismo de lipídios e glicídios em tecidos biológicos (LEE e KEMPER, 2010). Na avaliação dos níveis lipídicos como potenciais biomarcadores de risco de desenvolvimento de DM2 e doença arterial coronariana, verificou-se uma correlação positiva da expressão plasmática de miR-125b-5p com os níveis de colesterol total (MENS *et al.*, 2020). Na resistência à insulina induzida em animais pelo consumo de uma dieta de alto teor de gordura, miR-125b-5p foi capaz de promover uma regulação positiva na via de sinalização da insulina, reduzindo seu efeito. O miR-125b-5p regulou a sensibilidade à insulina, funcionando como um regulador da expressão de tafazina, uma proteína mitocondrial cardíaca que contribui para a resistência à insulina, fator primordial para o desenvolvimento de DCV (CHANG *et al.*, 2019). Um trabalho que avaliou a correlação entre obesidade e expressão de miRNAs a partir de pacientes obesos com e sem DM2, verificou que miR-125b-5p apresentou-se regulado positivamente no grupo de indivíduos obesos com DM2, supostamente por uma regulação na adipogênese mais evidente em obesos diabéticos, do que em indivíduos só obesos (BROVKINA *et al.*, 2019; STRYCHARZ *et al.*, 2021).

A supressão da *Dicer* no rim levou a uma diminuição radical da quantidade de células justaglomerulares. Como essas células são produtoras de renina, a inibição da *Dicer* resultou na redução do nível plasmático deste hormônio e, consequentemente, da pressão sanguínea, acarretando importantes distúrbios vasculares e fibrose (SEQUEIRA LOPEZ *et al.*, 2004; SEQUEIRA-LOPEZ *et al.*, 2010). Estes eventos parecem sinalizar que os miRNAs podem ser significativos para manutenção das células justaglomerulares, produção de renina, integridade e desempenho adequado do rim (SEQUEIRA-LOPEZ *et al.*, 2010). Em condições de homeostase, miR-125b-5p é expresso em células arteriolares do músculo liso vascular, sendo descrito como marcador de células justaglomerulares (MEDRANO *et al.*, 2012).

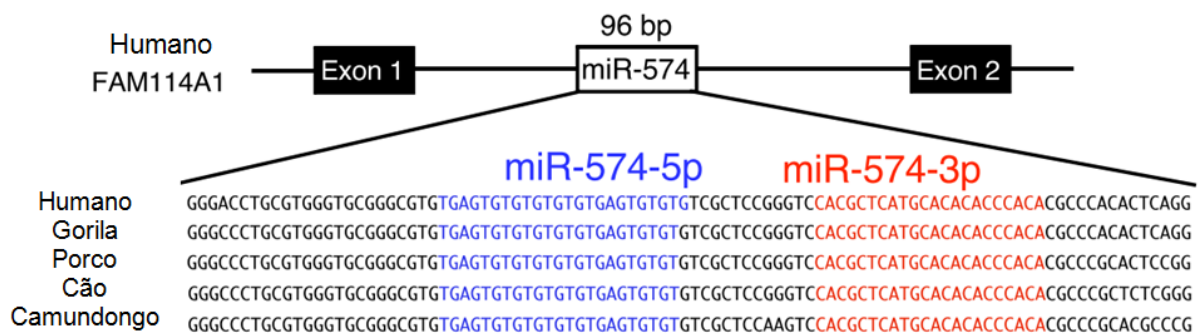
Alguns estudos mostraram que o miR-125b-5p pode ser utilizado como um biomarcador sanguíneo importante no diagnóstico de algumas comorbidades. O nível plasmático de miR-125b-5p, 24 horas após trombólise, encontra-se mais elevado em indivíduos com desfechos desfavoráveis, associado fortemente à severidade do AVC (TIEDT *et al.*, 2017; HE *et al.*, 2019). O miR-125b-5p atua como uma molécula sinalizadora dos sintomas iniciais das manifestações do AVC, sendo mais específico e sensível que a tomografia computadorizada multimodal no AVC

isquêmico agudo (TIEDT *et al.*, 2017). A análise de miRNAs no plasma sanguíneo de pacientes portadores de síndrome coronariana aguda demonstrou um aumento na expressão de miR-125b-5p em indivíduos com esta patologia, quando comparados à indivíduos saudáveis, podendo assim, ser utilizado como um biomarcador precoce no diagnóstico de IAM (JIA *et al.*, 2016).

1.8.2 miR-574-3p

Nos metazoários, o miR-574 se encontra conservado apresentando 43 variedades, sendo 33 encontradas em outros mamíferos, e 10, em primatas. Como observado na **Figura 12**, em mamíferos, o gene miR-574 está disposto no íntron1, do gene hospedeiro FAM114A1 (Família com similaridade de sequência 114 membro A1) (WU *et al.*, 2020).

FIGURA 12 - LOCALIZAÇÃO GÊNICA DE MIR-574-3p EM HUMANOS



Legenda: Nota-se a sequência da expressão gênica e localização de miR-574-3p em humanos, no íntron 1 do gene hospedeiro FAM114A1. Sua expressão também já foi descrita em outros mamíferos, como gorilas, porco, cão e camundongos. Em destaque, podemos observar sob o miR-574-5p e miR574-3p, um traço de cor preta, onde verificamos uma região de 2-8 nucleotídeos na sequência do miRNA maduro, estabelecendo a sequência semente ("seed") do miRNA, localizada na extremidade 5', indicando à qual RNA mensageiro o miRNA irá se ligar. Adaptado de Wu *et al.*, *BioRxiv* 2020.

A inflamação crônica está associada ao desenvolvimento da resistência à insulina e DM2. Neste sentido, miR-574-3p esteve significativamente reduzido no soro de portadores de DM2 (BALDEON *et al.*, 2014; ROJAS *et al.*, 2016), associado a processos inflamatórios, correlacionando-se positivamente ao nível da quimiocina CCL2 (ROJAS *et al.*, 2016). A CCL2 atua na quimiotaxia de monócitos e macrófagos em direção às áreas de inflamação (CONDUCTIER *et al.*, 2010). A expressão de miR-574-3p está elevada em adipócitos hipertróficos, contribuindo para a infiltração de macrófagos (SARTIPY e LOSKUTOFF, 2003; GUSTAFSON,

2010). Além disso, miR-574-3p parece colaborar para o desenvolvimento de doenças relacionadas à hiperinsulinemia e obesidade, das quais se incluía DM2 (SARTIPY e LOSKUTOFF, 2003). Verificou-se uma diminuição dos níveis séricos de miR-574-3p, mais evidentes em pacientes tratados com metformina (BALDEON *et al.*, 2014; ROJAS *et al.*, 2016).

Importantes estudos descreveram ações antiproliferativas, anti-invasivas e anti-migratórias do miR-574-3p, no câncer estômago e próstata (SINGLETON e WISCHMEYER, 2008; BRYANT *et al.*, 2012; SU *et al.*, 2012; TATARANO *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2014). Nestes trabalhos, foi demonstrado que o *cullin-1*, um regulador da inflamação via *NFκB*, pode ser um alvo de miR-574-3p (SINGLETON e WISCHMEYER, 2008). Uma diminuição de miR-574-3p em células pró-angiogênicas pode indicá-lo como um marcador de senescência. Monócitos pró-angiogênicos senescentes perdem sua habilidade de se proliferar e adquirem um fenótipo inflamatório (radicais oxidativos) (YANG *et al.*, 2012).

O *Framingham Heart Study* avaliou a expressão de 257 miRNAs em amostras de sangue total de mais de 2.000 indivíduos com AVC, e verificou que apenas o miR-574-3p esteve significativamente diminuído em indivíduos com AVC crônico em comparação aos controles. Análises mais minuciosas, indicam que o miR-574-3p pode desempenhar ações cerebrais, especialmente em vias neurometabólicas, em resultado de degenerações neuronais crônicas, funcionando como um regulador complementar dos efeitos do AVC crônico (SALINAS *et al.*, 2019).

1.8.3 miR-370-3p

O miR-370-3p tem sido amplamente relacionado ao câncer (MOLLAINÉZHAD *et al.*, 2016; CHEN *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2020) e a ações anti-inflamatórias em doenças cardiovasculares, como aterosclerose, infarto do miocárdio, insuficiência cardíaca, isquemia/reperfusão, fibrilação atrial (PORTER e TURNER, 2009; TIAN *et al.*, 2018; YUAN *et al.*, 2017; ZHU *et al.*, 2017).

Na aterosclerose, este miRNA promoveu uma interrupção da inflamação celular, a partir de uma diminuição dos níveis de moléculas inflamatórias (como IL-6 e IL-1β), bem como pela inibição do estresse oxidativo por inativação celular do TLR4 (receptor do tipo *toll* 4 - do inglês, *Toll-like Receptor 4*) (TIAN *et al.*, 2018). A

superexpressão de miR-370-3p foi capaz de melhorar a aterosclerose coronariana, a partir de uma inibição na expressão de FOXO1 (SHI e CHEN, 2019), considerada uma proteína reguladora imprescindível na homeostase celular, apoptose, progressão do ciclo celular, e metabolismo de glicídios e lipídios (TSUCHIYA e OGAWA, 2017). Na doença arterial coronariana, um aumento dos níveis plasmáticos de miR-370-3p está associado tanto ao desenvolvimento, quanto à gravidade da doença (GAO *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2016). No infarto do miocárdio, disfunção patológica marcada por fibrose miocárdica, principal característica do remodelamento cardíaco (PORTER e TURNER, 2009), o miR-370-3p têm efeitos antifibróticos (YUAN *et al.*, 2017). Em lesões de isquemia-reperfusão hepática, um aumento significativo na expressão deste miRNA tem função determinante. Observou-se que uma inibição miR-370-3p, é capaz de promover uma redução na aminotransferase sérica e do dano celular hepático, podendo regular positivamente a expressão de NF- κ B (ZHU *et al.*, 2017).

Seu envolvimento na obesidade está descrito em um estudo de Strycharz e colaboradores (2018), que é provavelmente o primeiro trabalho a tornar clara a ocorrência de alterações no nível de expressão de miR-370-3p na adipogênese em TAB, particularmente visceral.

2 JUSTIFICATIVA

A obesidade é uma doença complexa e de etiologia multifatorial (HAIDAR e COSMAN, 2011) sendo caracterizada por um acúmulo anormal ou excessivo de tecido adiposo, tanto em região subcutânea, quanto visceral (KWOK *et al.*, 2016), o que pode determinar uma série de agravos à saúde (HAIDAR e COSMAN, 2011). Segundo a OMS, para o ano de 2016, entre os indivíduos adultos ≥ 18 anos, 1,9 bilhões de indivíduos estavam com excesso de peso, e mais de 650 milhões apresentavam obesidade, perfazendo cerca de 13% da população (WHO, 2021). Em nosso país, também se observa um aumento contínuo da prevalência do número de casos de excesso de peso e obesidade, de 55,7% e 67,8% respectivamente, em 2018 (BRASIL, 2019). A obesidade, principalmente a visceral, é descrita como um dos mais relevantes e aumentados fatores de risco para a ocorrência de comorbidades, entre outras, as DCV, diabetes, SM e Doença de *Alzheimer* (OHLSON *et al.*, 1985; REXRODE *et al.*, 1998, DE ABREU *et al.*, 2017; FRANCISCHETTI *et al.*, 2020; DEZONNE, *et al.*, 2022). Causada principalmente por um desequilíbrio calórico crônico, com alta ingestão calórica e sedentarismo (HAIDAR e COSMAN, 2011; MARTINEZ *et al.*, 2012), a obesidade é distinta entre indivíduos devido a uma predisposição genética (HERRERA *et al.*, 2011) e por modificações ambientais com ação nos mecanismos epigenéticos (DABELEA *et al.*, 2008; MARTINEZ *et al.*, 2012), exibindo a obesidade como fruto da interação entre componentes genéticos e epigenéticos (MARTINEZ *et al.*, 2012), e suas comorbidades, associadas à modificações epigenéticas (WANG, *et al.*, 2010). Assim, surgem os miRNAs, que são moléculas com papéis cruciais na homeostase de diversos processos biológicos, como observado na adipogênese, na inflamação do tecido adiposo, no metabolismo de lipídeos e na resistência à insulina (LANDRIER *et al.*, 2019). Neste sentido, compreender a correlação entre a expressão de miRNAs circulantes em doenças, como a obesidade, é fundamental no estabelecimento de ferramentas biomarcadoras adicionais, potenciais, seguras e significativas no diagnóstico e tratamento medicamentoso da obesidade e suas consequências cardiometabólicas.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a expressão de miRNAs circulantes reguladores associados à obesidade, e o desenvolvimento de suas comorbidades, correlacionando esta expressão com variáveis antropométricas, pressóricas e bioquímicas, em mulheres adultas entre 20 e 45 anos, clinicamente saudáveis, classificadas segundo seu IMC.

3.2 Objetivos específicos

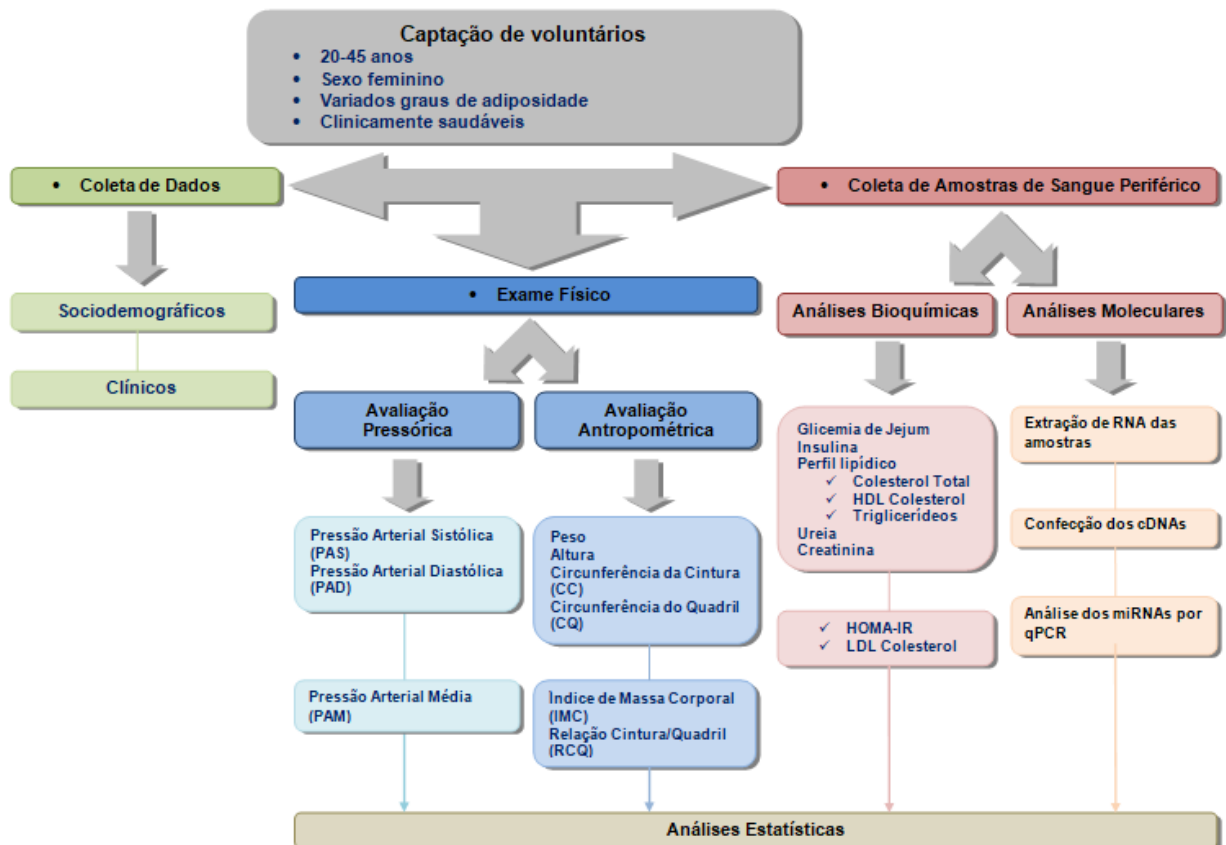
- Analisar as variáveis antropométricas, os níveis pressóricos, e estabelecer o perfil bioquímico das pacientes com peso normal (EU) e obesas (OB);
- Avaliar os níveis circulantes de miR-125b-5p e miR-574-3p nestas mesmas voluntárias;
- Examinar a existência de uma correlação entre a expressão dos miRNAs com os dados obtidos a partir dos parâmetros antropométricos, pressóricos e com o perfil bioquímico destas pacientes;
- Correlacionar a expressão dos miRNAs de estudo entre as voluntárias do grupo obeso (OB);
- Determinar se os níveis de expressão de miR-125b-5p e miR-574-3p têm potencial para funcionar como possíveis biomarcadores de doenças cardiometabólicas associadas à obesidade.

4 METODOLOGIA

4.1 Caracterização do estudo

A realização deste estudo compreendeu o desenvolvimento de diversas etapas, através das quais os sujeitos do estudo foram submetidos à coleta de dados sociodemográficos e clínicos, avaliação física (pressórica e antropométrica), coleta de material biológico para a avaliação bioquímica e molecular, etapas estas demonstradas em resumo no fluxograma a seguir (**Figura 13**).

FIGURA 13 - DESENHO ESQUEMÁTICO REPRESENTATIVO DA METODOLOGIA APLICADA AO DESENVOLVIMENTO DESTE ESTUDO



Legenda: A elaboração de nosso trabalho contou com a coleta de dados sociodemográficos e clínicos, para a composição da população de estudo; avaliação física, para a determinação dos níveis pressóricos e antropométricos; e coleta de amostras de sangue periférico, para análise bioquímica e molecular.

4.2 Casuística

Refere-se a uma amostra de conveniência, constituída por 23 indivíduos do sexo feminino, recrutadas entre acadêmicas e funcionárias da Universidade do Grande Rio (UNIGRANRIO) que se habilitaram a participar voluntariamente, com idades entre 20 a 45 anos, clinicamente saudáveis, e diferentes graus de adiposidade, sendo separadas em dois grupos distintos: grupo peso normal/eutróficas/controle (EU) com IMC entre 18.5 - 24.9 kg/m²; e grupo obeso (OB), com IMC $\geq$ 30 kg/m². Foram incluídas na pesquisa as pacientes que atenderam aos critérios de inclusão e exclusão descritos a seguir.

Previamente ao início do recolhimento de dados para a pesquisa, as voluntárias selecionadas foram claramente esclarecidas sobre todos os detalhes do estudo, e ao concordar com a proposta, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO A), e foram posteriormente, submetidas à coleta de dados sociodemográficos e clínicos, avaliação física (pressórica e antropométrica) e análise bioquímica e molecular (ANEXO B).

O presente estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNIGRANRIO, sob o parecer nº1. 359.083 (ANEXO C).

4.2.1 Critérios de inclusão

Foram incluídas no estudo, as voluntárias que possuíam a capacidade de ler, compreender e assinar o TCLE; com idades entre 20 e 45 anos; sem distinção de etnia; e que se enquadraram, segundo a classificação do IMC, nos seguintes grupos distintos: Peso normal (EU), IMC entre 18.5 - 24.9 kg/m²; e obeso (OB), IMC $\geq$ 30 kg/m².

4.2.2 Critérios de exclusão

Foram excluídas, as pacientes que exibiram qualquer das seguintes condições: DM2 ou intolerância à glicose, doenças autoimunes, cardiovasculares, endócrinas, hematológicas, hepáticas, intestinais, metabólicas, neoplásicas, neurodegenerativas, pulmonares, psiquiátricas, renais, síndrome obstrutiva do sono; uso de fármacos que interferem na pressão arterial, no peso corporal, e no

metabolismo de carboidratos e lipídeos; tabagismo, etilismo e uso de substâncias ilícitas; período de gestação/lactação.

4.3 Determinação da Pressão Arterial (PA)

Para a avaliação da PA foi adotado o método oscilométrico, com a utilização de um monitor de PA automático (marca OMRON), por emprego de um manguito corretamente ajustado ao membro superior das voluntárias, devidamente sentadas, após um período de 10 a 15 minutos de repouso. Inicialmente, cada participante foi submetida a uma aferição em ambos os braços (direito e esquerdo), somente para controle, e descartadas a seguir. Imediatamente a 5 minutos de repouso, foram realizadas três outras medidas consecutivas, com intervalos de 3 a 5 minutos entre cada verificação, para o cálculo da média dos níveis pressóricos. Durante a avaliação, foram excluídos os valores que indicam diferenças superiores a 10 mmHg para pressão arterial sistólica (PAS) e 5 mmHg para a diastólica (PAD).

Já o valor da pressão arterial média (PAM) foi determinado a partir do cálculo do dobro da PAD somado a média da PAS, com o resultado dividido por três. Para que os valores de PA obtidos fossem classificados, consideramos as recomendações para medições de PA casuais ou em ambulatorios descritos no **Quadro 3** (MALACHIAS *et al.*, 2016). Verifica-se que além de caracterizar a presença de um quadro de hipertensão, as categorias de pressão arterial também mostram seus três diferentes estágios, indicando o agravamento da doença.

QUADRO 3 - CLASSIFICAÇÃO DOS VALORES DE PRESSÃO ARTERIAL (PA) PARA >18 ANOS

Categorias de Pressão Arterial	Diagnóstico	
	Pressão Arterial Sistólica (PAS)	Pressão Arterial Diastólica (PAD)
Pressão arterial normal	≤ 120 mmHg	≤ 80 mmHg
Pré-hipertensão	121-139 mmHg	81-89 mmHg
Hipertensão estágio I	140 – 159 mmHg	90 – 99 mmHg
Hipertensão estágio II	160 – 179 mmHg	100 – 109 mmHg
Hipertensão estágio III	≥ 180 mmHg	≥ 110 mmHg

Legenda: Adaptado de Malachias et al. Arquivos Brasileiros de Cardiologia 2016; 107: 7-13.

4.4 Avaliação antropométrica

Para a caracterização do estado nutricional das participantes, foram utilizados parâmetros imediatos e indispensáveis de medidas antropométricas, como o peso, a estatura, e as circunferências da cintura (CC) e de quadril (CQ), seguidas da determinação do IMC e da relação cintura/quadril (RCQ).

4.4.1 Índice de Massa Corporal (IMC) na determinação do estado nutricional

O IMC é um indicador simples e eficaz da determinação do estado nutricional, com base na fórmula, peso atual (em kg) dividido pela altura (em m²). Para a caracterização do peso corpóreo, utilizamos uma balança antropométrica de plataforma da marca *Balmak* (BALMAK, Santa Bárbara do Oeste, Brasil), calibrada, fixada sobre uma superfície plana, estável e resistente. A avaliação do peso corporal foi realizada com as voluntárias em jejum, descalças e com vestimentas leves, em posição ortostática, centralizadas sobre a balança. Na medida da estatura utilizamos um estadiômetro de haste móvel, com as participantes de pé, com os pés descalços e unidos, costas retas, calcanhares e glúteos em contato com a superfície, braços estendidos ao longo do corpo, e olhos voltados para frente. A partir da coleta de peso e altura, foi realizado o cálculo do IMC, e a voluntária, classificada de acordo com o diagnóstico clínico, descrito no **Quadro 1**, na introdução deste trabalho, sendo considerada obesa ao exibir um IMC $\geq 30,0$ kg/m² (WHO, 1998, 2000, 2021).

4.4.2 Circunferência da Cintura (CC) e Relação Cintura/Quadril (RCQ) como determinantes de complicações associadas à obesidade

Para a determinação da CC e CQ, foi utilizada uma fita métrica metálica, graduada em centímetros, com a paciente em posição ortostática, ou seja, de pé, e com roupas leves. Para a aferição da CC, a voluntária manteve seus braços dispostos ao longo do corpo, pés afastados por um espaço entre 25 e 30 cm, e área da cintura desnuda, enquanto o avaliador se posicionou à sua frente, circundando a fita ao redor do ponto médio localizado entre o último arco costal e a crista ilíaca, no momento de sua expiração. Os pontos de corte para a CC foram utilizados conforme os critérios clínicos para o diagnóstico da SM, com valores de ≥ 80 cm para

mulheres, segundo Alberti e Colaboradores (2009), estando estes, associados ao desenvolvimento de complicações associadas à obesidade.

Na mensuração da CQ, utilizada somente em associação à CC para a avaliação da RCQ, a participante permaneceu ereta, com pés unidos, braços ligeiramente afastados do corpo, durante o tempo em que o avaliador se posicionou à sua frente, contornando a fita em torno de seu quadril, na região de maior circunferência entre sua cintura e coxa, sobre o glúteo.

Já a RCQ, parâmetro simples, sensível, e comumente empregado na avaliação da distribuição de gordura corporal, e relacionado à ocorrência de DCV e fatores de risco associados, foi determinada a partir da divisão dos valores da medida da CC pela CQ (MEGNIEN *et al.*, 1999). Na prática clínica, em caucasianos, uma relação de $> 0,85$ para o sexo feminino, indica o risco de desenvolvimento de doenças (WHO, 1998; 2000).

4.5 Análises bioquímicas

As avaliações bioquímicas de nossas voluntárias foram realizadas em parceria com o LABORAFE (Laboratório de Análises Clínicas da Unigranrio), a partir da coleta de aproximadamente 10 ml de sangue periférico após um período de 12h de jejum.

Dentre as análises bioquímicas, foram realizadas: glicemia de jejum, insulina, perfil lipídico (colesterol total, HDL-C e triglicerídeos), ureia e creatinina. Posteriormente, estabelecemos os resultados para o HOMA-IR (*Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance*) e LDL-C, a partir da utilização de fórmulas amplamente recomendadas pela literatura científica.

O padrão de normalidade para a avaliação bioquímica teve como base os valores de referência, para indivíduos adultos do sexo feminino, estabelecidos pelo LABORAFE para cada tipo de análise, como visto no **Quadro 4**, ou descritos na literatura científica.

QUADRO 4 - VALORES DE REFERÊNCIA PARA AS ANÁLISES BIOQUÍMICAS EM INDIVÍDUOS ADULTOS DO SEXO FEMININO

Parâmetros bioquímicos	Valores de normalidade	Referência
Glicemia de Jejum	Normal: 70 a 99 mg/dL.	*Associação Americana de Diabetes, 2006
Insulina	Normal: 1,90 a 23,00 mcUI/mL	Análise realizada em laboratório de apoio
HOMA-IR Insulina jejum x glicose jejum / 22,5	≥ 2,71	** GELONEZE et al., 2006
Colesterol total	Desejável: < 200 mg/dL Limítrofe: 200 – 239 mg/dL Alto: ≥ 240 mg/dL	*IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Sposito et al., 2007
HDL colesterol	Baixo: < 40 mg/dL Desejável: > 60 mg/dL	*IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Sposito et al., 2007
Triglicerídeos	Desejável: < 150 mg/dL Limítrofe: 150 – 200 mg/dL Alto: 201 – 499 mg/dL Muito alto: ≥ 500 mg/dL	*IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Sposito et al., 2007
LDL colesterol CT - HDL - (TG / 5)	Ótimo: <100 mg/dL Desejável: 100-129 mg/dL Limítrofe: 130-159 mg/dL Alto: 160 – 189 mg/dL Muito alto: ≥190 mg/dL	*V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Xavier et al., 2013
Ureia	Normal: 13 a 43 mg/dL	** ABENSUR, 2011
Creatinina	Normal: 0,60 a 1,10 mg/dL	** ABENSUR, 2011

Legenda: *Parâmetro de referências utilizado pelo LABORAPE; **Parâmetro de referência utilizado de acordo com as recomendações da literatura.

4.5.1 Glicemia de jejum

As concentrações séricas de glicose foram determinadas em amostras de soro ou plasma por meio de método enzimático (glicose oxidase/peroxidase), com a utilização de tubos sem anticoagulantes, centrifugadas consecutivamente após a coleta, com valor de referência em mg/dL de acordo com as recomendações da Associação Americana de Diabetes (ADA, 2006), bem como aqueles descritos pela Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2022), considerando-se: normoglicemia < 100 mg/dL; pré-diabetes ou risco aumentado para diabetes 100 a 125 mg/dL; e diabetes estabelecido > 125 mg/dL.

4.5.2 Insulina

A concentração sérica de insulina foi dosada a partir do soro sanguíneo, por método de quimioluminescência, com valor apresentado em mcUI/mL. Este parâmetro bioquímico, diferentemente dos demais, foi realizado em um laboratório de apoio ao LABORAFE.

4.5.3 Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR)

Para o estabelecimento do índice de resistência à insulina empregamos um cálculo a partir da fórmula do HOMA-IR (*Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance*), pelo qual a resistência é estabelecida pelo produto da insulinemia de jejum ($\mu\text{U/ml}$) e glicemia de jejum (mmol/l) dividido por 22,5 (MATTHEWS *et al.*, 1985). Parâmetro este, fortemente associado ao *clamp* euglicêmico/hiperinsulinêmico. Em conformidade com o resultado de uma amostra da população brasileira de origem multiétnica, o estado de RI está definido por um $\text{HOMA-IR} \geq 2,71$ (GELONEZE *et al.*, 2006).

4.5.4 Perfil lipídico (Colesterol total, HDL colesterol, LDL colesterol e Triglicerídeos)

Para as concentrações séricas relacionadas ao metabolismo lipídico, utilizamos as análises do colesterol total (CT), de acordo com o método colesterol oxidase/peroxidase; HDL-C, por método direto; e triglicerídeos, segundo o método glicerol fosfato oxidase/peroxidase. Os valores de referência utilizados pelo LABORAFE seguem os critérios diagnósticos determinados pela IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (SPOSITO *et al.*, 2007). Já o LDL-C, foi estimado a partir da fórmula de *Friedwald*, sendo, $\text{LDL-C} = \text{CT} - \text{HDL-C} - (\text{TG} / 5)$, quando os valores de triglicerídeos séricos estiveram $< 400 \text{ mg/dl}$. Os valores expressam-se em mg/dL (FRIEDEWALD *et al.*, 1972), e seus parâmetros de normalidade tiveram como base os pontos de corte descritos na V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (XAVIER *et al.*, 2013).

4.5.5 Ureia

Na avaliação da concentração de ureia foi utilizado o método urease/glutamato desidrogenase. Os valores de referência, para adultos, empregado pelo LABORAFE foi de 13 a 43 mg/dL, em conformidade com os pontos de corte comumente adotados nos laboratórios de análises clínicas, cujo parâmetro de normalidade é de 20 a 40 mg/dL (ABENSUR, 2011).

4.5.6 Creatinina

Para a dosagem da concentração sérica de creatinina o LABORAFE contou como método *Jaffé*. O padrão de normalidade empregado para indivíduos do sexo feminino foi de 0,60 a 1,10 mg/dL, em concordância com grande parte dos laboratórios que dispõem de valores de 0,6 a 1,3 mg/dL (ABENSUR, 2011).

Para complementar a avaliação clínica da função renal de nossas pacientes, utilizamos a Taxa de Filtração Glomerular (TFG), parâmetro mais vantajoso para apontar anormalidades bioquímicas da atividade renal, a partir do uso da equação de creatinina CKD-EPI (*The Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration Equation*), considerado o método mais preciso em vários estudos populacionais, através da fórmula (específica para o sexo feminino): $eTFG = 141 \times \min(Cre/k, 1)^\alpha \times \max(Cre/k, 1)^{-1,209} \times 0,993^{Idade} \times 1,018 \times 1,159$ (se negra). Onde, Cre (é creatinina sérica [mg/dL]; k (é 0,7); α (é -0,329); min (é mínimo de Cre/k ou 1); e máx (máximo de Cre/k ou 1). Um valor $> 90 \text{ mL/min/1,73m}^2$ é considerado normal para indivíduos adultos saudáveis (LEVEY *et al.*, 2009; ABENSUR, 2011; KDIGO, 2013).

4.6 Determinação diagnóstica da Síndrome Metabólica (SM)

Para o estabelecimento da ocorrência da SM entre as pacientes, avaliamos a presença dos critérios determinantes de seu diagnóstico clínico, com seus respectivos pontos de corte, dos quais se incluem a obesidade visceral (separado por gênero e conforme a etnia); TG; HDL-C (distinto por gênero); PA; Glicemia de Jejum (CORNIER *et al.*, 2008; ALBERTI *et al.*, 2009; HARRIS, 2013; GRUNDY, 2016; NOLAN *et al.*, 2017), como observado no **Quadro 5**. Apesar da descrição de cinco fatores de risco estar relacionados ao diagnóstico clínico da SM, a ocorrência

de apenas três destes, já é suficiente para seu estabelecimento (ALBERTI *et al.*, 2009).

QUADRO 5 – CRITÉRIOS DETERMINANTES DO DIAGNÓSTICO CLÍNICO DA SÍNDROME METABÓLICA (SM)

Fatores de Risco	Nível de Definição
Obesidade abdominal (circunferência abdominal) Limites específicos que consideram diferentes populações e países	
Homens	≥ a 90 cm*
Mulheres	≥ a 80 cm
Triglicerídeos **	≥ a 150mg/dL
HDL- colesterol **	
Homens	< 40mg/dL
Mulheres	< 50mg/dL
Pressão arterial **	≥ 130 / ≥85mmHg
Glicose em jejum **	≥ 100 mg/dL
-América Central e América do Sul ** Ou em tratamento para o fator de risco	

Legenda: Para os critérios com valores distintos para ambos os sexos, destacamos na cor azul, os valores pertencentes ao sexo feminino, objeto de nosso estudo. Adaptado de Alberti et al. *Circulation* 2009; 120: 1640-1645.

4.7 Análise molecular

As avaliações moleculares foram realizadas no LAMP (Laboratório de Pesquisas Multidisciplinares em Odontologia) e LabGen (Laboratório de Genética Humana) localizados na Universidade UNIGRANRIO.

Nesta análise foi realizada a extração de RNA das amostras, confecção dos cDNAs de cada um dos miRNAs estudados, e análise da expressão dos miRNAs por PCR quantitativa (qPCR). Para isso, utilizamos o soro obtido da coleta de sangue periférico das voluntárias, acondicionado em tubos não tratados com EDTA. Foram necessários cerca de 5ml de soro para a extração do RNA.

Previamente à separação do sangue, a amostra foi deixada em temperatura ambiente por um período de 30 min, favorecendo a coagulação espontânea. Posteriormente a formação do coágulo, esta amostra foi submetida a uma primeira centrifugação de 290 RCF por 20 minutos a 20°C. A fase do soro foi coletada e movida para tubos de 15 mL. A seguir, esta fase foi levada para uma segunda

centrifugação de 1200 RCF por 20 minutos a 20° C, a fim de favorecer a precipitação de quaisquer células residuais. Por fim, transferimos o sobrenadante para tubos de 2,0 mL, e armazenamos à - 80°C.

4.7.1 Extração de RNA das amostras

Para a realização da extração de RNA em amostras de soro das voluntárias, empregamos o método *mirVana™ miRNA Isolation kit* (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA, cat #AM1560), com algumas alterações em seu protocolo, especificada em síntese a seguir: para os 500 µL do soro obtido a partir das duas etapas de centrifugação e posteriormente armazenamento, foi acrescido o mesmo volume de *2X Denaturing Solution*, em seguida, misturado e incubado no gelo por 5 minutos, o mesmo volume de fenol-clorofórmio foi adicionado, totalizando um volume de 1000 µL. Essa solução foi homogeneizada e submetida a uma centrifugação de 12 000 RCF por 10 minutos em temperatura ambiente. Esta etapa de centrifugação foi realizada para a obtenção da fase aquosa contendo ácidos nucleicos, e repetida com a adição de água *endonuclease free*, a fase orgânica fenol-clorofórmio, até a obtenção de um volume total de 1100 µL de fase aquosa. Após a separação desta fase, seguimos com as recomendações do fabricante para a purificação e isolamento de pequenos RNAs. Posteriormente a este processo, 50 µL de água *endonuclease free*, aquecida à 95°C, foi aplicada diretamente no centro do filtro. Por último, realizamos uma nova centrifugação, e o filtrado, contendo os pequenos RNAs, foi estocado a - 80° C.

4.7.2 Confecção dos cDNAs

Para a seleção dos miRNAs analisados neste estudo, utilizamos como base, estudos e bancos de dados de miRNAs (www.mirbase.org e www.diana.imis.athena-innovation.gr).

Para a confecção dos cDNAs de cada miRNA pesquisado (miR-125b-5p, miR-370-3p e miR-574-3p) e o endógeno (miR-16) adotamos o *kit MicroRNA Reverse Transcription* (Thermo Fisher Scientific) e *primers Taqman* para cada miRNA em análise. Para isto, foram utilizados 0,15 µL de dNTPs, 1 µL de *Multiscribe™ RT*

enzyme (50U/ μ L), 1,5 μ L de *Buffer* 10 X, 0,19 μ L de *RNAse inhibitor* (20U/ μ L), 4,16 μ L de *H₂O RNAse free*, 3 μ L de *primer* (miR-125b-5p, miR-370-3p, miR-574-3p, e miR-16). Para a amplificação, aplicamos as seguintes condições: 16 °C por 30 min, 42 °C por 30 min, 85 °C por 5 min.

4.7.3 Análise dos miRNAs por PCR quantitativa (qPCR)

Na análise da expressão dos miRNAs por qPCR foi aplicado o sistema de detecção *Taqman* (*Thermo Fisher Scientific*) com base no uso de dois primers e uma sonda, próprios para o transcrito em análise. Contamos com primers para os miRNAs, miR-125b-5p (cat#000449); miR-574-3p (cat#002349) e miR-370-3p (cat#002275), em análise do normalizador miR-16 (cat#000391). As reações foram feitas em triplicata, sempre acompanhadas de um controle negativo, totalizando um volume de 20 μ L para cada reação. As reações compreenderam a aplicação de 1,33 μ L de produto de cDNA, 10 μ L 2 *TaqMan® Universal PCR Master Mix II* (2X), no UNG (*Applied Biosystems*) e 1 μ L de *TaqMan® Small RNA Assay* e 7.67 μ L de *H₂O nuclease free*. As reações foram executadas no aparelho *QuantStudio 7* (*Applied Biosystems*, Foster City, Califórnia, EUA), e as condições para a amplificação foram: *Hold* de 50 °C por 2 min, *Hold* de 95 °C por 10 min, seguidos de 40 ciclos de desnaturação 95 °C por 15s, e anelamento e extensão 60 °C por 1min. O valor de corte para considerar a diferença de expressão foi de duas vezes.

4.7.4 Avaliação do nível de expressão de miRNAs

Para a obtenção do nível de expressão dos miRNAs avaliados, utilizamos o cálculo da expressão relativa de acordo com o método do $2^{-\Delta\Delta C_q}$ (LIVAK e SCHMITTGEN, 2001). O método $2^{-\Delta\Delta C_t}$, ou método comparativo de C_t , refere-se à uma equação matemática capaz de calcular as mudanças na expressão gênica a partir das diferenças entre uma amostra normalizadora (grupo peso normal - EU) e uma experimental (grupo obeso - OB), estabelecidas por um padrão. A obtenção de ΔC_t representa a diferença entre o valor da média dos C_t s do gene de interesse do estudo e a média dos C_t s do gene normalizador. A determinação de $\Delta\Delta C_t$ compreende a subtração entre o valor de ΔC_t para cada amostra experimental e o

valor médio de ΔCt para as amostras normalizadoras. O cálculo $2^{-\Delta\Delta Ct}$ se dá a partir da subtração entre $2^{\Delta Ct}$ e o valor de $\Delta\Delta Ct$ para cada amostra experimental, seguida da realização da média de $2^{-\Delta\Delta Ct}$ para cada triplicata.

4.8 Análise estatística

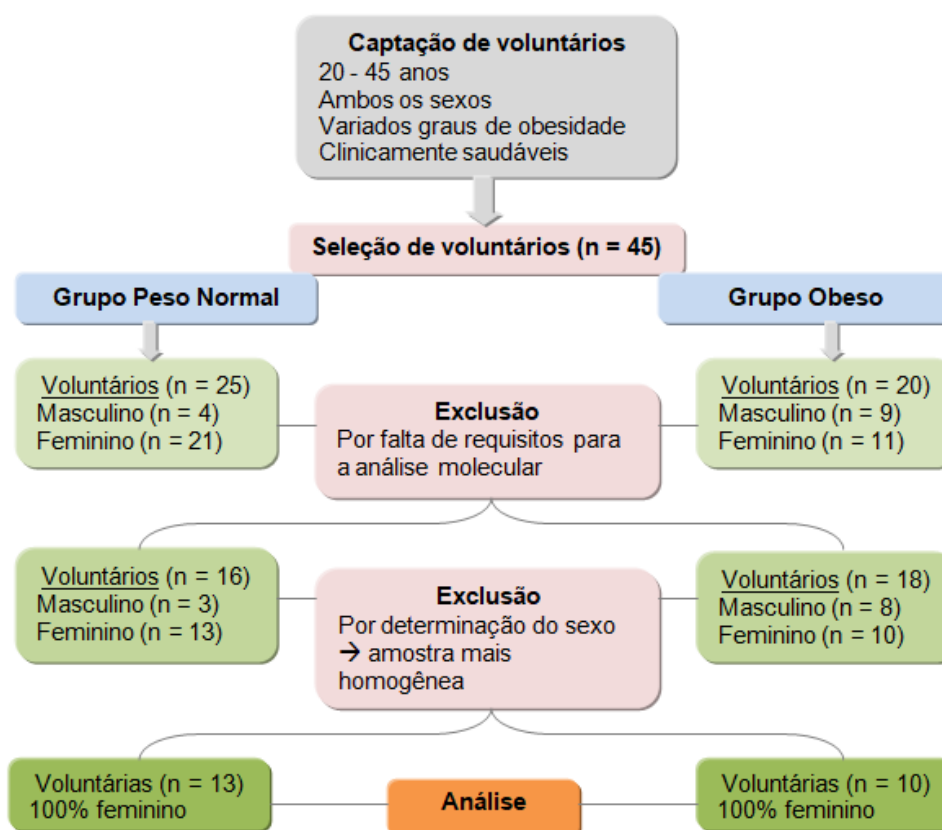
Neste trabalho, que trata de uma amostra de conveniência, de estudo de prova de conceito, todas as análises das variáveis demográficas e clínicas obtidas foram realizadas com a utilização do *software* estatístico IBM-SPSS (versão 19, IBM Brasil, São Paulo, SP, Brasil). Foi calculada a média de idade da população em estudo. Para a separação dos indivíduos em grupos de estudo (peso normal – EU e obeso - OB), os indivíduos foram classificados de acordo com o IMC. Na avaliação das diferenças significativas das variáveis demográficas e clínicas entre os grupos, adotamos o teste U de *Mann-Whitney*. A análise das correlações entre os parâmetros clínicos e moleculares foi demonstrada a partir do Coeficiente de Correlação de *Pearson*. Para todos os testes estatísticos foram considerados significativos os valores de $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 Caracterização da população do estudo

A amostra total inicial de nosso trabalho foi composta por 45 voluntários de ambos os sexos, sendo que destes, somente 34 pacientes preenchiam os critérios de inclusão para os requisitos fundamentais a uma investigação adequada dos parâmetros moleculares. No entanto, para evitar a ocorrência de eventuais prejuízos no resultado de nossas análises devido a um número limitado de voluntários do sexo masculino, particularmente no grupo de peso normal (EU), foi elegível para a composição deste estudo, uma amostra mais homogênea, predominantemente feminina (n = 23), diagnosticada e estratificada por grupo, segundo o IMC, sendo 13 voluntárias com peso normal (EU) e 10 obesas (OB) (**Figura 14**).

FIGURA 14 - FLUXOGRAMA DEMONSTRATIVO DA IDENTIFICAÇÃO, SELEÇÃO E AMOSTRA FINAL DE PACIENTES NA CONSTRUÇÃO DESTE ESTUDO



Legenda: Verifica-se, que na exclusão de voluntários por falta de critérios para uma adequada avaliação molecular, e em busca por uma amostra mais homogenia entre os grupos de estudo, foi estabelecida uma população majoritariamente feminina, contemplando-se um total de 23 voluntárias, sendo 13 de peso normal (EU) e 10 obesas (OB).

Para a determinação das características da população de nosso estudo, descrevemos a seguir, o resultado da análise das variáveis demográficas, antropométricas, pressóricas e bioquímicas (**Tabelas 1, 2 e 3**).

Em relação às variáveis demográficas, quanto à raça, a população analisada foi composta por um maior número de mulheres de peso normal (EU) brancas, pardas e pretas (46,15%, 46,15% e 7,7%, respectivamente). Já na distribuição racial entre mulheres obesas (OB) o percentual de brancas, pardas e pretas foi de 40%, 40% e 20%, respectivamente (**Tabela 1**).

A idade das pacientes variou de 20 a 45 anos, sendo que a idade média da população total foi de 28,52 ($\pm 6,75$) anos. Entre os grupos, o de peso normal (EU) apresentou uma idade média de 26,08 ($\pm 5,38$) anos, e para o grupo obeso (OB) a média foi de 31,70 ($\pm 7,27$) anos, não havendo uma diferença estatisticamente significativa em relação à idade entre estes dois grupos (**Tabela 1**).

A partir da avaliação antropométrica, as pacientes foram separadas em grupos de acordo com o diagnóstico clínico de seu estado nutricional, através do IMC. Das voluntárias obesas, a maioria (80%) apresentou obesidade grau I (IMC $\geq 30 - 34,9$ kg/m²). Apenas uma paciente (10%) foi diagnosticada com obesidade grau II (IMC $\geq 35 - 39,9$ kg/m²), e outra (10%) com obesidade grau III (IMC ≥ 40 kg/m²). Os indivíduos obesos apresentaram valores de peso e IMC significativamente maiores que os de peso normal ($p < 0,001$; $p < 0,001$, respectivamente) (**Tabela 1**).

Na avaliação das variáveis CC, CQ e RCQ, verificamos no grupo peso normal (EU), somente um indivíduo (7,69%) fora do parâmetro de normalidade (83,0 cm), para a CC. Já no grupo obeso (OB) todas as voluntárias (100%) tiveram valores elevados (81,3 a 128,0 cm) para a CC; 30% com aumento (0,85, 0,87 e 0,89) da RCQ; e uma diferença significativamente maior para as medidas de CC, CQ e RCQ ($p < 0,001$; $p < 0,001$ e $p = 0,008$, respectivamente) em comparação ao grupo peso normal (EU) (**Tabela 1**).

TABELA 1 - CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E ANTROPOMÉTRICAS DA POPULAÇÃO DOS GRUPOS TOTAL, PESO NORMAL (EU) E OBESO (OB)

Variáveis em Análise	População Total (n=23)	Peso Normal (EU) (n=13)	Obeso (OB) (n=10)	Valor de <i>p</i> *
Idade (anos)	28,52 ± 6,75	26,08 ± 5,38	31,70 ± 7,27	0,66
Branca	43,48	46,15	40,0	-
Raça/Etnia (%)Parda	43,48	46,15	40,0	-
Preta	13,04	7,7	20,0	-
Peso (kg)	70,46 ± 21,62	54,88 ± 5,50	90,71 ± 17,21	<0,001
Estatura (m)	1,58 ± 0,58	1,55 ± 0,46	1,61 ± 0,61	0,54
Índice de Massa Corporal – IMC (kg/m ²)	28,00 ± 6,96	22,69 ± 1,74	34,91 ± 4,54	<0,001
Circunferência da Cintura – CC (cm)	80,56 ± 16,56	69,01 ± 6,64	95,58 ± 12,98	<0,001
Circunferência de Quadril – CQ (cm)	106,89 ± 14,72	96,73 ± 5,60	120,10 ± 12,04	<0,001
Relação Cintura Quadril – RCQ	0,75 ± 0,76	0,71 ± 0,57	0,80 ± 0,70	0,008

Legenda: Os valores apresentados nesta tabela representam média ± desvio padrão. Os valores destacados em negrito demonstram a presença de uma diferença significativa no grupo obeso (OB).

* O valor de *p* utilizado para diferenças entre integrantes do grupo peso normal e o grupo obeso foi obtido a partir do teste de *Mann-Whitney*.

Na determinação da PA, todos os parâmetros foram mais elevados para o grupo obeso (OB), sendo essa diferença significativa para a PAD e PAM ($p=0,005$ e $p=0,011$, respectivamente). No grupo peso normal (EU) uma paciente apresentou uma PAD de 81,7 mmHg. Já no grupo obeso (OB), uma voluntária apresentou pré-hipertensão (PAS 121,3 mmHg, PAD 81,3 mmHg e PAM 94,6 mmHg); uma paciente, um valor aumentado na PAD 84,7 mmHg; e uma terceira, alterações indicativas entre uma pré-hipertensão e hipertensão estágio I (PAS 121,0 mmHg, PAD 93,0 mmHg e PAM 102,3 mmHg) (**Tabela 2**).

TABELA 2 - CARACTERÍSTICAS PRESSÓRICAS DA POPULAÇÃO DOS GRUPOS TOTAL, PESO NORMAL (EU) E OBESO (OB)

Variáveis em Análise	População Total (n=23)	Peso Normal (EU) (n=13)	Obeso (OB) (n=10)	Valor de p^*
Pressão Arterial Sistólica – PAS (mmHg)	105,79 ± 9,00	103,44 ± 8,36	108,86 ± 9,29	0,239
Pressão Arterial Diastólica – PAD (mmHg)	73,47 ± 7,94	69,74 ± 7,01	78,32 ± 6,50	0,005
Pressão Arterial Média – PAM(mmHg)	84,23 ± 7,57	80,97 ± 6,74	88,48 ± 6,64	0,011

Legenda: Os valores apresentados nesta tabela representam média ± desvio padrão. Os valores destacados em negrito demonstram a presença de uma diferença significativa no grupo obeso (OB).

* O valor de p utilizado para diferenças entre integrantes do grupo peso normal e o grupo obeso foi obtido a partir do teste de *Mann-Whitney*.

Quanto aos parâmetros bioquímicos, na mensuração dos níveis de glicemia de jejum, verificamos: no grupo peso normal (EU), uma das voluntárias com um valor de 109 mg/dL, e no grupo obeso (OB) duas pacientes fora do padrão de normalidade (105 mg/dL e 102 mg/dL). Para insulina, 30% das pacientes do grupo obeso (OB), apresentaram altos valores (38,05 mcUI/mL, 23,8 mcUI/mL e 25,7 mcUI/mL). Quanto ao HOMA-IR, uma paciente de peso normal (EU) (3,04), e seis do grupo obeso (60,0%), apresentaram valores acima do recomendado para este parâmetro, com uma variação de HOMA-IR de 3,68 a 7,96. Na avaliação destes indicadores, importantes na determinação da RI, observamos para o grupo obeso (OB) valores significativamente maiores para todas as variáveis (glicose, insulina e HOMA-IR), na comparação entre os grupos ($p=0,043$, $p=0,001$ e $p=0,001$, respectivamente) (**Tabela 3**).

Em se tratando de perfil lipídico, notamos no grupo peso normal (EU), um nível mais elevado de CT. No grupo obeso (OB), maiores valores de LDL-C e TG, e menores de HDL-C. Houve diferença significativa de HDL-C e uma tendência de TG no grupo obeso (OB). Na avaliação isolada por grupo, notamos que no de peso normal (EU), duas pacientes tiveram um alto nível (258 mg/L e 241 mg/L) e outras quatro, limítrofe de CT (202 mg/L a 222 mg/L); enquanto somente uma taxa limítrofe foi exibida por uma voluntária do grupo obeso (OB) (214 mg/L). Na análise do HDL-C, cinco mulheres de peso normal (EU) (38% do grupo) exibiram níveis menores do que o desejável (53 a 60 mg/L), resultado semelhante para 100% do grupo obeso

(OB) (40 a 60 mg/L). Na análise dos resultados de LDL-C, uma das pacientes de peso normal (EU) exibiu um alto valor (173 mg/dL), e outras duas tiveram valores limítrofes (155 mg/dL e 151 mg/dL); já no grupo obeso (OB), apenas uma das voluntárias teve um resultado limítrofe (147 mg/dL). Quanto aos resultados para TG, em ambos os grupos, todos os valores estavam dentro da normalidade (**Tabela 3**).

TABELA 3 - CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DA POPULAÇÃO DOS GRUPOS TOTAL, PESO NORMAL (EU) E OBESO (OB)

Variáveis em Análise	População Total (n=23)	Peso Normal (EU) (n=13)	Obeso (OB) (n=10)	Valor de p^*
Glicose (mg/dL)	91,74 ± 8,35	89,00 ± 9,00	95,30 ± 6,13	0,043
Insulina (mcUI/mL)	11,77 ± 8,56	6,98 ± 3,00	17,98 ± 9,56	0,001
HOMA-IR	2,74 ± 1,99	1,59 ± 0,72	4,22 ± 2,15	0,001
Colesterol total – CT (mg/dL)	174,71 ± 43,61	186,92 ± 39,72	177,30 ± 22,18	0,535
HDL colesterol (mg/dL)	61,83 ± 14,36	69,77 ± 14,11	51,50 ± 5,40	<0,001
LDL colesterol (mg/dL)	106,68 ± 31,34	104,18 ± 37,93	109,92 ± 21,52	0,556
Triglicerídeos (mg/dL)	71,13 ± 21,06	64,54 ± 18,87	79,70 ± 21,56	0,067
Ureia (mg/dL)	24,87 ± 16,85	27,00 ± 22,01	22,10 ± 5,74	0,780
Creatinina (mg/dL)	0,82 ± 0,14	0,85 ± 0,16	0,80 ± 0,13	0,420

Legenda: Os valores apresentados nesta tabela representam média ± desvio padrão. Os valores destacados em negrito demonstram a presença de uma diferença significativa no grupo obeso (OB).
* O valor de p utilizado para diferenças entre integrantes do grupo peso normal e o grupo obeso foi obtido a partir do teste de *Mann-Whitney*.

Na verificação dos marcadores de função renal, observamos no grupo de peso normal (EU) uma das pacientes com um nível elevado (98 mg/dL) e outra baixo (12 mg/dL) de ureia, e uma outra paciente com valor aumentado de creatinina (1,14 mg/dL). Já no grupo obeso (OB), todos os resultados estavam dentro dos parâmetros de normalidade. Não houve uma diferença significativa destes parâmetros na comparação entre os grupos (**Tabela 3**).

Na avaliação da função renal a partir da Taxa de Filtração Glomerular (TFG), em que o valor de normalidade é $> 90 \text{ mL/min/1,73 m}^2$, uma TFG levemente reduzida foi observada em três pacientes no grupo peso normal (EU), sendo: 67,0;

68.9 e 83.6 mL/min/1,73 m²; e três do grupo obeso (OB), sendo: 77.0; 82.5 e 88.4 mL/min/1,73 m².

Na avaliação da presença de SM entre as pacientes dos grupos estudo, é possível afirmar que apenas uma das voluntárias do grupo obeso (OB) preencheu os critérios para o diagnóstico clínico de SM (sendo, CC: 128cm, HDL-C: 47mg/L, e Glicose: 102mg/dL).

5.2 Correlação entre as variáveis antropométricas, pressóricas e bioquímicas nas pacientes do estudo

Analizando os parâmetros antropométricos, pressóricos e bioquímicos pelo coeficiente de correlação de *Pearson*, verificamos uma correlação positiva muito forte entre IMC e CC, e IMC e CQ; e positiva forte entre HOMA-IR e CC (**Tabela 4**).

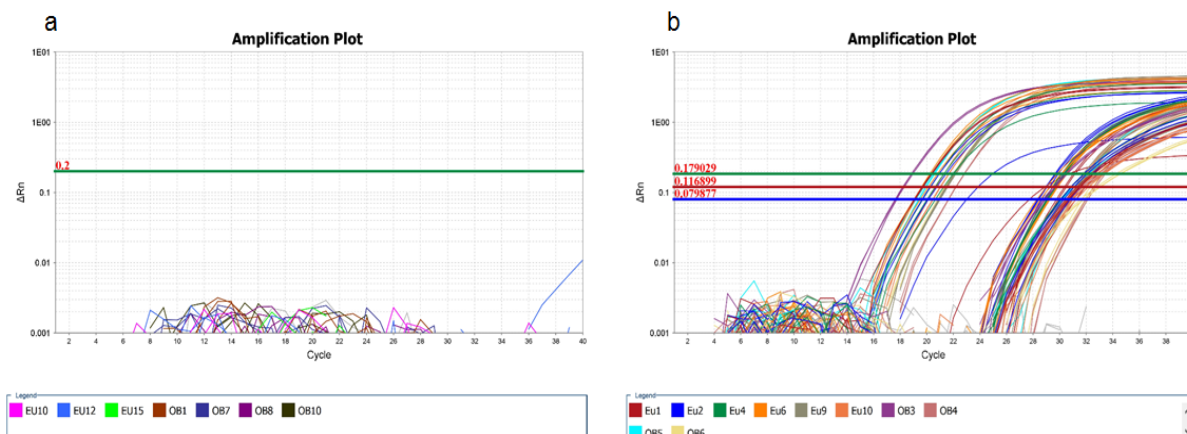
TABELA 4 – CORRELAÇÃO ENTRE VARIÁVEIS CLÍNICAS E MOLECULARES NAS PACIENTES DO ESTUDO

Correlação	Variáveis em Análise	<i>r</i>	<i>p</i>
Positiva muito forte	IMC e CC	0,931	< 0,001
	IMC e CQ	0,943	< 0,001
Positiva forte	HOMA-IR e CC	0,727	< 0,001

Legenda: Os valores apresentados nesta tabela representam a análise das correlações entre os parâmetros clínicos e moleculares, demonstrada a partir do Coeficiente de Correlação de *Pearson*. IMC – índice de Massa Corporal; CC – Circunferência de Cintura; CQ – Circunferência do Quadril; HOMA-IR – Modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina (do inglês, *Homeostasis Assessment Model of Insulin Resistance*).

5.3 Determinação dos níveis de expressão dos miRNAs de estudo

Para a análise molecular da expressão de miRNAs neste estudo, inicialmente foi realizada a avaliação das moléculas miR-125b-5p, miR-574-3p e miR-370-3p, contemplando amostras de voluntários de ambos os sexos, como citado anteriormente. No entanto, não houve amplificação de miR-370-3p nas amostras, como podemos observar na **Figura 15**. Em relação ao controle endógeno, foi utilizado para a análise, o miR-16.

FIGURA 15 - AVALIAÇÃO DA AMPLIFICAÇÃO DE MIRNAS EM AMOSTRAS DE SORO

Legenda: Perfil de expressão de miR-370-3p, miR-125b-5p e miR-574-3p em amostras de soro. A amplificação de miR-370-3p pode ser observado a partir das cores, em que o rosa se refere ao paciente EU10, azul – EU12, verde – EU15, marrom – OB1, azul escuro – OB7, roxo – OB8, e preto – OB10 (a); e de miR-370-3p, miR-125b-5p e miR-574-3p, nas cores marrom – EU1, azul – EU2, Verde escuro – EU4, laranja – EU6, cinza – EU9, tijolo – EU10, roxo escuro – OB3, grená – OB4, azul turquesa – OB5 e bege – OB6 (b). Nota-se, na avaliação isolada da expressão de miR-370-3p, que não houve amplificação (a); verifica-se, na análise conjunta de miR-370-3p, miR-125b-5p e miR-574-3p, que não houve amplificação somente para o miR-370-3p, os demais miRNAs amplificaram adequadamente (b). Os valores de *fold-change* são expressos em escala log10.

5.4 Avaliação da expressão do miR-125b-5p e miR-574-3p nos grupos do estudo

Seguimos então com a avaliação de miR-125b-5p e miR-574-3p nos grupos selecionados, contemplando 13 voluntárias de peso normal (EU) e 10 obesas (OB). Levando-se em conta a expressão relativa segundo a equação do $2^{-\Delta\Delta C_t}$, os valores obtidos de *fold change* (FC) para os miRNAs nas amostras foram dispostos na **Tabela 5**, de acordo com o ponto de corte de ± 2 , sendo então classificados como: hipoexpressas aquelas amostras que apresentaram valores de $FC < 0,5$; sem variação na expressão as que apresentaram FC de 0,5 a 2,0; e hiperexpressas aquelas amostras com $FC > 2,0$.

Em relação à miR-125b-5p, no grupo de peso normal (EU) cinco amostras (38,46%) se apresentaram hipoexpressas (EU17, EU18, EU19, EU21 e EU22), e outras cinco (38,46%) hiperexpressas (EU4, EU6, EU9, EU12 e EU15). No grupo obeso (OB), houve hipoexpressão em cinco (38,46%) das amostras (OB11, OB12, OB18, OB19 e OB20), e duas (15,38%) foram hiperexpressas (OB4 e OB8) (**Tabela 5**).

Quanto ao miR-574-3p, no grupo peso normal (EU), quatro (30,77%) das amostras se mostraram hipoexpressas (EU1, EU17, EU19 e EU21), enquanto em apenas uma (7,69%) houve hiperexpressão (EU15). No grupo obeso (OB), observamos uma hipoexpressão para duas (20%) das amostras (OB6 e OB12), além de hiperexpressão em uma (10%) destas (OB19) (**Tabela 5**).

Como identificamos que na expressão dos miRNAs de estudo, duas pacientes apresentaram um comportamento muito diferente das demais voluntárias do estudo, com um nível de expressão extremamente acentuado para a expressão de miR-125b-5p (OB8) e miR-574-3p (EU15), realizamos uma nova análise molecular excluindo-se estas amostras das demais (**Tabela 5**).

Assim, na avaliação de miR-125b-5p sem OB8, não houve qualquer alteração nos valores de expressão nos grupos de estudo. Já na análise de miR-574-3p sem EU15, percebemos no grupo peso normal (EU) uma hiperexpressão desta molécula em quatro (33,33%) dos indivíduos (EU6, EU9, EU12 e EU24), enquanto no grupo obeso (OB), cinco das amostras (50%) se mostraram hiperexpressas (OB4, OB8, OB16, OB19, OB20) (**Tabela 5**).

TABELA 5 - EXPRESSÃO DE MIR-125b-5p E MIR-574-3p NOS GRUPOS PESO NORMAL (EU) E OBESO (OB)

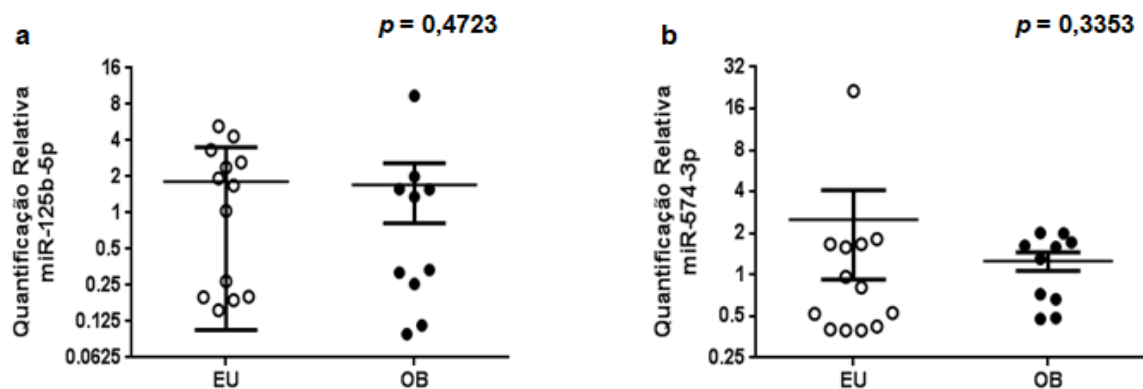
<i>Fold-Change</i>				
Amostras	miR-125b-5p	miR-125b-5p (sem OB8)	miR-574-3p	miR-574-3p (sem EU15)
EU1	1,691	1,691	0,396	0,505
EU4	5,257	5,257	0,965	1,230
EU6	2,628	2,628	1,816	2,315
EU9	3,340	3,340	1,672	2,131
EU10	1,939	1,939	0,810	1,033
EU12	2,385	2,385	1,669	2,128
EU15	4,340	4,340	21,473	-
EU17	0,270	0,270	0,402	0,513
EU18	0,199	0,199	0,529	0,614
EU19	0,188	0,188	0,422	0,538
EU21	0,155	0,155	0,396	0,505
EU22	0,201	0,201	0,520	0,663
EU24	1,042	1,042	1,581	2,015
OB4	2,009	2,009	1,718	2,191
OB6	1,359	1,359	0,479	0,611
OB8	9,444	-	1,584	2,021
OB10	1,569	1,569	1,306	1,929
OB11	0,256	0,256	0,723	0,923
OB12	0,319	0,319	0,486	0,620
OB16	1,579	1,579	1,621	2,068
OB18	0,116	0,116	0,665	0,848
OB19	0,098	0,098	2,006	2,558
OB20	0,335	0,335	1,997	2,548

Legenda: *FC – valores de *fold-change* obtidos através do método $2^{-\Delta\Delta C_t}$ na avaliação comparativa entre o grupo peso normal (EU) e grupo obeso (OB). Em cada amostra, valores em azul demonstram aqueles em que os miRNAs aparecem hipoexpressos; em preto, quando normoexpressos; e em vermelho, quando hiperexpressos.

5.5 Relação da expressão do miR-125b-5p e miR-574-3p nos grupos de estudo

Quando analisamos a expressão dos miRNAs entre os grupos do estudo, verificamos que não houve uma diferença estatisticamente significativa na expressão de miR-125b-5p ($p=0,4723$) e miR-574-3p ($p=0,3353$), quando comparados os dois grupos de voluntárias com peso normal (EU) e obesas (OB) (Figuras 16a e 16b).

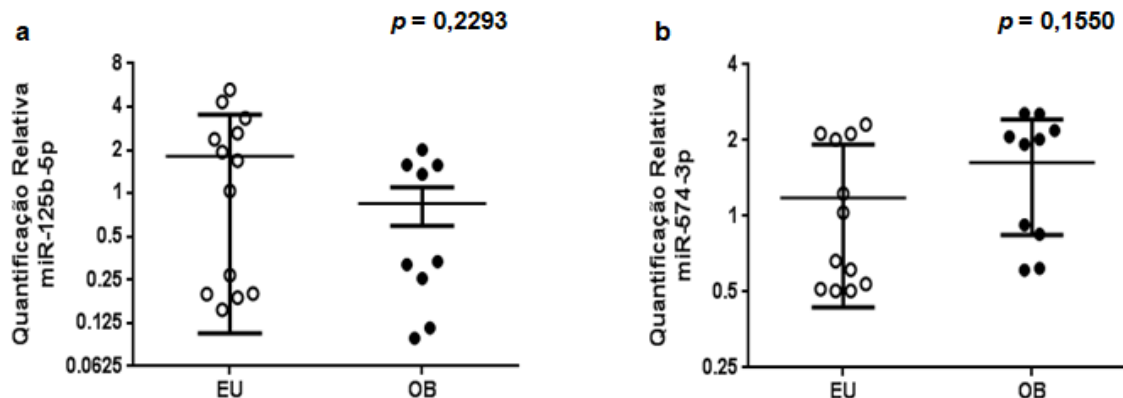
FIGURA 16 - EXPRESSÃO DOS MIR-125b-5p E MIR-574-3p POR *qPCR* NOS GRUPOS PESO NORMAL (EU) E OBESO (OB)



Legenda: Perfis de expressão de miR-125b-5p (a) e miR-574-3p (b). Nota-se que não houve uma diferença significativa na expressão de miR-125b-5p e miR-574-3p quando comparados os dois grupos (a e b). Os valores de *fold-change* são expressos em escala log10, $p < 0,05$.

Da mesma maneira, realizamos uma nova análise excluindo os *outliers*, amostra OB8 para miR-125b-5p e amostra EU15 para miR-574-3p. Nesta nova abordagem também não houve nenhuma diferença estatisticamente significativa na expressão de miR-125b-5p e miR-574-3p entre os grupos ($p=0,2293$ e $p=0,1550$, respectivamente) (Figuras 17a e 17b).

FIGURA 17 - EXPRESSÃO DOS MIR-125b-5p E MIR-574-3p POR *qPCR* NOS GRUPOS PESO NORMAL (EU) E OBESO (OB), SEM A PRESENÇA DOS *OUTLIERS*



Legenda: Perfis de expressão de miR-125b-5p (a) e miR-574-3p nos grupos peso normal (EU) e obeso (OB) (b), sem a presença de *outliers* (sem OB8 na análise de miR-125b-5p; sem EU15 em miR-574-3p). Verifica-se que não houve nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto à expressão de miR-125b-5p e miR-574-3p (a e b). Valores de *fold-change* expressos em escala log10, $p < 0,05$.

5.6 Correlação entre a expressão de miR-125b-5p e miR-574-3p nos grupos de estudo, e as variáveis demográficas, antropométricas, pressóricas e bioquímicas

Nas análises de correlação da amostra geral para os miRNAs com os parâmetros demográficos, antropométricos, pressóricos e bioquímicos, não foram encontradas correlações significativas. Não houve correlação entre os dois miRNAs analisados.

5.7 Comparação das anormalidades clínicas individuais com a expressão dos miRNAs analisados

Para uma melhor compreensão da correlação entre as anormalidades clínicas apresentadas individualmente entre os pacientes do estudo com a expressão de seus miRNAs, verificamos na **Tabela 6**, entre os indivíduos de peso normal (EU): (EU1) níveis aumentados de CC, ureia e HOMA-IR, limítrofe de CT, e hipoexpressão de miR-574-3p; (EU4) nível reduzido de ureia, limítrofe de CT, hiperexpressão de miR-125b-5p; (EU6) valor menor que o desejável de HDL-C, hiperexpressão de miR-125b-5p e miR-574-3p (sem EU15); (EU9) níveis aumentados de creatinina e glicose, limítrofe de CT, hiperexpressão de miR-125b-5p e miR-574-3p (sem EU15); (EU10) aumento de CT, limítrofe de LDL-C, sem alteração na expressão de miRNAs;

(EU15) sem qualquer anormalidade clínica, mas com hiperexpressão de miR-125b-5p e miR-574-3p; (EU17) valores elevados de CT e LDL-C, menor que o desejável de HDL-C, hipoexpressão de miR-125b-5p e miR-574-3p; (EU18) níveis aumentados da PAD, limítrofes de CT e LDL-C, abaixo do desejável de HDL-C, hipoexpressão de miR-125b-5p; (EU19 e EU21) sem qualquer anormalidade clínica, mas com hipoexpressão de miR-125b-5p e miR-574-3p; (EU22) nível menor que o desejável de HDL-C, hipoexpressão de miR-125b-5p; (EU24) sem nenhuma anormalidade clínica, mas com hiperexpressão de miR-574-3p (sem EU15).

Já no grupo obeso (OB), observamos: (OB4) níveis aumentados de CC, RCQ, insulina e HOMA-IR, menor que o desejável de HDL-C, hiperexpressão de miR-125b-5p e miR-574-3p (sem EU15); (OB6) elevação da CC, valor menor que o desejável de HDL-C, e hipoexpressão de miR-125b-5p e miR-574-3p; (OB8) aumento de CC, nível menor que o desejável de HDL-C, e hiperexpressão de miR-125b-5p e miR-574-3p (sem EU15); (OB10) níveis aumentados de CC e HOMA-IR, menor que o desejável de HDL-C, sem alteração na expressão de miRNAs; (OB11) valores aumentados de CC, PAS e PAD, menor que o desejável de HDL-C, e hipoexpressão de miR-125b-5p; (OB12) elevação dos valores de CC, abaixo do desejável de HDL-C, e hipoexpressão de miR-125b-5p e miR-574-3p; (OB16) níveis aumentados de CC, RCQ, glicose, insulina e HOMA-IR, menor que o desejável de HDL-C, hiperexpressão de miR-574-3p (sem EU15); (OB18) valores elevados de CC, PAD e HOMA-IR, abaixo do desejável de HDL-C, e hipoexpressão de miR-125b-5p; (OB19) valores aumentados de CC, insulina e HOMA-IR, limítrofe de CT e LDL-C, menor que o desejável de HDL-C, hipoexpressão de miR-125b-5p, e hiperexpressão de miR-574-3p e miR-574-3p (sem EU15); (OB20) níveis elevados de CC, RCQ, PAS, PAD, Glicose e HOMA-IR, menor que o desejável de HDL-C, hipoexpressão de miR-125b-5p e hiperexpressão de miR-574-3p (sem EU15) **(Tabela 6).**

TABELA 6 - ANÁLISE DA CORRELAÇÃO ENTRE AS ANORMALIDADES CLÍNICAS INDIVIDUAIS E A EXPRESSÃO DE MIRNAS

Amostras	miR-125b-5p (C/S OB8) FC	miR-574- 3p FC	miR-574- 3p (S/ EU15) FC	Anormalidades clínicas
EU1	1,691	0,396	0,505	↑:CC/Ureia/HOMA-IR; L:CT
EU4	5,257	0,965	1,230	↓:Ureia; L:CT
EU6	2,628	1,816	2,315	<D:HDL-C
EU9	3,340	1,672	2,131	↑:Creatinina/Glicose; L:CT
EU10	1,939	0,810	1,033	↑:CT; L:LDL-C
EU12	2,385	1,669	2,128	<D:HDL-C
EU15	4,340	21,473	-	-
EU17	0,270	0,402	0,513	↑:CT/LDL-C; <D:HDL-C
EU18	0,199	0,529	0,614	↑:PAD; L:CT/LDL-C; <D:HDL-C
EU19	0,188	0,422	0,538	-
EU21	0,155	0,396	0,505	-
EU22	0,201	0,520	0,663	<D:HDL-C
EU24	1,042	1,581	2,015	-
OB4	2,009	1,718	2,191	↑:CC/RCQ/insulina/HOMA-IR; <D:HDL-C
OB6	1,359	0,479	0,611	↑:CC; <D:HDL-C
OB8	9,444	1,584	2,021	↑:CC; <D:HDL-C
OB10	1,569	1,308	1,929	↑:CC/HOMA-IR; <D:HDL-C
OB11	0,256	0,723835	0,92321127	↑:CC/PAS/PAD; <D:HDL-C
OB12	0,319	0,486	0,620	↑:CC;<D:HDL-C
OB16	1,579	1,621	2,068	↑:CC/RCQ/Glicose/insulina/HOMA- IR; <D:HDL-C
OB18	0,116	0,665	0,848	↑:CC/PAD/HOMA-IR; <D:HDL-C
OB19	0,098	2,006	2,558	↑:CC/insulina/HOMA-IR; L:CT/LDL- C; <D: HDL-C
OB20	0,335	1,997	2,548	↑:CC/RCQ/PAS/PAD/Glicose/ HOMA-IR; <D:HDL-C

Legenda: *FC – valores de *fold-change* obtidos através do método $2^{-\Delta\Delta C_t}$ na avaliação comparativa entre o grupo peso normal (EU) e obeso (OB). Em cada amostra, valores em azul demonstram aqueles em que os miRNAs aparecem hipoexpressos; em preto, normoexpressos; e em vermelho, hiperexpressos. O grupo obeso (OB) é composto por obesas grau I (OB4, OB6, OB8, OB10, OB11, OB16, OB18 e OB19), grau II (OB12) e grau III (OB20). Nota-se no grupo peso normal (EU) uma menor correlação entre as variáveis estudadas e a expressão de miRNAs. Ao contrário, este efeito foi melhor evidenciado no grupo obeso (OB). CC – Circunferência de Cintura; HOMA-IR – Modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina (do inglês, *Homeostasis Assessment Model of Insulin Resistance*); CT – Colesterol total; HDL-C – Lipoproteínas de alta densidade (do inglês, *High Density Lipoproteins*); L – Limítrofe; LDL-C – Lipoproteínas de baixa densidade (do inglês, *Low Density Lipoproteins*); PAD – Pressão arterial diastólica; PAS – Pressão arterial sistólica; RCQ – Relação cintura/quadril; ↑ – Níveis aumentados; ↓ – Níveis diminuídos; < D – Abaixo do desejável.

6 DISCUSSÃO

Marcada provavelmente, e em parte, por uma modificação no comportamento alimentar e do estilo de vida, notadamente a partir da década de 70, fruto de uma associação entre o consumo exagerado de alimentos altamente calóricos e redução nos níveis de atividade física (GRUNDY, 2004; HAIDAR e COSMAN, 2011; MARTINEZ *et al.*, 2012; MALIK *et al.*, 2013), a obesidade humana, que afeta as mais variadas etnias, idades, sexo e padrões socioeconômicos (HAIDAR e COSMAN, 2011), tem sido amplamente evidenciada e descrita, por seu caráter global e epidêmico, aumentando significativamente o risco de se desenvolver doenças metabólicas associadas à essa patologia, como a DM2, HA e SM (ALBERTI *et al.*, 2009; HAIDAR e COSMAN, 2011; WHO, 2020), e pelo ponto de vista econômico, impactando negativamente no encarecimento dos gastos em serviços de saúde pública (CAI *et al.*, 2013).

Também já se sabe, que a progressão da obesidade e de suas comorbidades, podem ser estabelecidas por uma correlação entre elementos genéticos e epigenéticos (DABELEA *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2010; MARTINEZ *et al.*, 2012). Assim, enfatizamos os miRNAs, moléculas com ação expressiva na regulação gênica (BARTEL, 2004; AHN *et al.*, 2013), com atividade celular e fisiológica (PALMER *et al.*, 2014), associados ao desenvolvimento de várias doenças, como a obesidade (ALVAREZ-GARCIA e MISKA, 2005; KRUTZFELDT e STOFFEL, 2006; VILLARD *et al.*, 2015). Neste sentido, este estudo teve como objetivo correlacionar a expressão de miRNAs circulantes associados à obesidade e o desenvolvimento de suas comorbidades (SAKAGUCHI *et al.*, 2006; KAROLINA *et al.*, 2012; SEYHAN *et al.*, 2016), no soro de 13 voluntárias de peso normal (EU) e 10 obesas (OB), entre 20 e 45 anos, com seus resultados demográficos e clínicos, antropométricos, pressóricos e bioquímicos.

Quanto à idade, nossa população teve média de 28,52 ($\pm 6,75$) anos, tendo o grupo obeso (OB) uma média de idade ($31,70 \pm 7,27$) superior ao grupo eutrófico, porém não houve uma diferença significativa entre os dois grupos de estudo. Quanto à raça/etnia, ambos os grupos foram compostos pelas raças branca, parda e preta, sendo o grupo de peso normal (EU) 46,15%, 46,15% e 7,7%, respectivamente; e o de obesas (OB), com 40%, 40% e 20%, respectivamente, demonstrando o perfil multiétnico e altamente miscigenado que marca a distribuição heterogênea de nossa

sociedade (MANTA *et al.*, 2013; MOURA *et al.*, 2015) e a variabilidade genética de nossa população atual (CALLEGARI-JACQUES *et al.*, 2003; GODINHO *et al.*, 2008).

Na avaliação antropométrica, o grupo obeso (OB) com média de IMC de 34,91 ($\pm$ 4,54), foi contemplado principalmente por voluntárias diagnosticadas com obesidade grau I (80%), provavelmente em virtude dos rigorosos critérios de inclusão e exclusão aplicados ao estudo. Em relação às análises de correlação, nosso estudo observou que a variável IMC se correlacionou positiva e muito fortemente com a CC e CQ. Na população adulta, o IMC configura um importante parâmetro clínico, vantajoso na avaliação do estado nutricional, que examina igualmente ambos os sexos e faixas etárias da população adulta, entretanto, pode não refletir precisamente o nível de adiposidade em indivíduos distintos (WHO, 2021), por se limitar à determinação da obesidade a partir do peso orgânico total, sem avaliar a composição e a distribuição da gordura corporal, necessitando de parâmetros adicionais, como a medida da CC e a determinação da RCQ, na identificação do risco de desenvolvimento de comorbidades associadas à adiposidade, particularmente àquela localizada em região visceral (MEGNIEN *et al.*, 1999; CARR e BRUNZELL, 2004; SUN *et al.*, 2010; ASHWELL e GIBSON, 2016).

Dados do ano de 2016 para indivíduos $\geq$ 18 anos demonstraram que 1,9 bilhões (13%) da população mundial, estavam com excesso de peso, e destes, 650 milhões já obesos (WHO, 2021). Em nosso país, o Ministério da Saúde apontou em 2015, um percentual de 52,5% indivíduos $\geq$ 18 anos com excesso de peso (BRASIL, 2015), enquanto em 2018 foram 55,7% com excesso de peso, e 67,8% com obesidade (BRASIL, 2019). Pesquisas longitudinais mostraram que uma elevação mais pronunciada de peso corporal é mais evidente em indivíduos mais jovens (PAJUNEN *et al.*, 2012; CAMAN *et al.*, 2013; JACOBSEN *et al.*, 2015). Uma correlação entre o excesso de peso em indivíduos adultos e o risco no desenvolvimento de doenças cardiometabólicas, já foi estabelecida em estudos epidemiológicos (DA COSTA *et al.*, 2012; VANAANAN *et al.*, 2018). Neste sentido, é que optamos ao estudo em uma população mais jovem, pela redução no risco do desenvolvimento de doenças, observadas em indivíduos de mais idade.

Na avaliação das medidas de CC, CQ e RCQ, já descritas como determinantes do desenvolvimento de complicações cardiometabólicas associadas à obesidade (MEGNIEN *et al.*, 1999; ALBERTI *et al.*, 2009), observamos diferenças significativas para todas estas variáveis, com valores mais elevados no grupo obeso

(OB). Notamos também, uma correlação da CC, positiva e muito forte com o IMC, e forte com o HOMA-IR. Quanto à CQ, houve uma correlação positiva e muito forte com o IMC. Para a CC, a utilização da medida e sua interpretação constituem-se uma ferramenta notável e altamente incluída, na avaliação clínica individualizada e no desenvolvimento de estudos, e como parte integrante do diagnóstico da SM, relacionada à obesidade visceral (CARR E BRUNZELL, 2004; KLEIN *et al.*, 2007; ASHWELL E GIBSON, 2016). No grupo peso normal, somente EU1 (7,69% das pacientes) apresentou a CC acima do ponto de corte (WHO, 2008), em acordo com pesquisas anteriores que evidenciaram que mesmo indivíduos classificados com IMC de peso normal podem exibir uma medida mais alta de CC (BOOTH *et al.*, 2000; ARDERN *et al.*, 2004). Entre as obesas, 100% da amostra exibiu medidas acima do recomendado. Segundo a Terceira Pesquisa Nacional de Saúde e Nutrição realizada com 12.608 adultos de ambos os sexos, a CC, na comparação a outros parâmetros de adiposidade corporal, incluindo-se o IMC, foi considerada o melhor indicador da condição de risco para o desenvolvimento de DCV (MENKE *et al.*, 2007). Além de já comprovada que sua medida represente um fator independente no risco de se desenvolver DCV, também já está estabelecida a correlação positiva da CC com a classificação do IMC (ZHU *et al.*, 2002; MENKE *et al.*, 2007).

Em se tratando da RCQ, 30% do grupo obeso (OB) tiveram resultados mais elevados para este parâmetro, estreitamente relacionado ao risco no desenvolvimento de complicações cardiometabólicas, já que a obesidade visceral tem forte relação com as alterações no funcionamento do tecido adiposo (CARR E BRUNZELL, 2004; KLEIN *et al.*, 2007; ASHWELL E GIBSON, 2016). Na comparação a outros indicadores antropométricos, a RCQ destaca-se como um parâmetro distinto no risco de desenvolvimento de DVC e mortalidade, já que sua composição conta com a medida da CQ, correlacionada contrariamente às variações nas medidas da glicose, lipídios, HA, DM e DCV (HEITMANN *et al.*, 2004; OKURA *et al.*, 2004).

Embora já bastante utilizadas, as medidas de CC e RCQ, como parâmetros importantes no diagnóstico clínico individual e em estudos populacionais, no risco do desenvolvimento de DCV e metabólicas, relacionados particularmente à adiposidade visceral, o padrão de distribuição de gordura corporal pode ser explicado como uma variação do sexo, já que os homens tendem a acumular mais gordura na região abdominal e tronco, com maior correlação com o desenvolvimento de doenças

cardiometabólicas, enquanto as mulheres normalmente armazenam gordura de forma subcutânea em regiões mais periféricas, como nas áreas glúteo-femoral, menor associada ao risco de doenças (BLOUIN *et al.*, 2008; LEE *et al.*, 2013). Utilizados a partir de pontos de corte de CC distintos para homens e mulheres (sendo, >90 cm e >80 cm, respectivamente), e de RCQ (>1,0 e >0,85, respectivamente) (WHO, 2008), são recomendados para a população da América Latina, como indicadores fortemente associados a outros parâmetros constituintes da SM (BERBER *et al.*, 2001; LÓPEZ-JARAMILLO *et al.*, 2007; PINZO'N *et al.*, 2007). Em contrapartida, não há qualquer pesquisa observacional nestes indivíduos que determine a ação da CC no desenvolvimento da DCV e na diabetes (LÓPEZ-JARAMILLO *et al.*, 2007).

Quanto aos níveis pressóricos, o grupo obeso (OB) apresentou os parâmetros mais elevados na comparação ao grupo peso normal (EU), com diferença significativa para a PAS e PAM. Destas voluntárias, 30% tiveram as seguintes alterações: valores sugestivos de um quadro de pré-hipertensão (OB11); aumento da PAD (OB18); alterações indicativas entre uma pré-hipertensão e hipertensão estágio I (OB20). Além do mais, estas mesmas pacientes também exibiram outras variações, sendo: (OB11), aumento de CC e limítrofe de HDL-C; (OB18), aumento de CC e HOMA-IR, e HDL-C abaixo do desejável; e (OB20), aumento de CC, glicose, HOMA-IR e menor que o desejável para HDL-C. É importante destacar que ao excesso de peso, particularmente associado à obesidade visceral, é atribuído um risco mais significativo e adicional na ocorrência da HA (HALL *et al.*, 2015), causada principalmente pela hiperinsulinemia e estímulo do SNS, gerando uma diminuição da excreção renal de sódio, com consequente aumento da pressão arterial para balancear o sódio (SOWERS *et al.*, 1982; KRIEGER e LANDSBERG, 1988; TROISI *et al.*, 1991; MORSE *et al.*, 2005). Além do mais, alguns estudos demonstram um valor mais elevado de PA em indivíduos adultos do sexo masculino (GHOSH *et al.*, 2016; CHOI *et al.*, 2017; GOUVEIA *et al.*, 2021), contrariando um outro trabalho com uma prevalência significativamente maior de PA entre as mulheres das áreas rurais de Bangladesh (ISLAM *et al.*, 2020). Como nosso trabalho se dedicou ao estudo majoritariamente feminino, este tipo de comparação não foi possível. Na avaliação da correlação das variáveis relacionadas à PA, notamos que a PAM se correlacionou moderadamente com o IMC.

Na análise de variáveis importantes na determinação da RI (glicose, insulina e HOMA-IR), encontramos valores significativamente maiores para o grupo obeso (OB). E na comparação entre medidas antropométricas e o metabolismo glicídico, no grupo peso normal (EU), a única paciente (EU1) que apresentou aumento da CC, também teve um alto valor para HOMA-IR. No grupo obeso (OB), com aumento da CC em 100% das voluntárias, 30% destas, também mostraram aumento da RCQ (OB4, OB16 e OB20). Além do mais, as pacientes OB16 e OB20 apresentaram aumento nos níveis de glicose, segundo o que estabelece a Sociedade Brasileira de Diabetes: normoglicemia < 100 mg/dL; pré-diabetes ou risco aumentado para diabetes 100 a 125 mg/dL; e diabetes estabelecido > 125 mg/dL (SBD, 2022); OB4, OB16 e OB19, elevação da insulina, de acordo os níveis considerados normais de 1,90 a 23,00 mcUI/mL; e OB4, OB10, OB16, OB18, OB19 e OB20, altos valores para HOMA-IR, acima do ponto de corte ($\geq 2,71$) estabelecido para a nossa população (GELONESE *et al.*, 2006). Estudos anteriores com indivíduos de ambos os sexos, mostram que independentemente da faixa de IMC em que um indivíduo é enquadrado, a CC, tem sido apontada como uma medida de obesidade visceral indicadora da tolerância anormal à glicose (SAARISTO *et al.*, 2008; BOMBELLI *et al.*, 2011; GOMEZ-AMBROSI *et al.*, 2011). O estudo das variáveis de nosso trabalho mostrou uma correlação da insulina positiva e moderadamente com o IMC, CC e RCQ; além de inversa e moderada com o HDL. Para o HOMA-IR, verificamos, uma associação positiva e fortemente com a CC, e moderadamente com o IMC.

Estudos atribuem à obesidade visceral, o agravo mais significativo no curso do desenvolvimento de condições fisiopatológicas da RI e de condições associadas (BALISTRERI *et al.*, 2010; SAMUEL e SHULMAN, *et al.*, 2012; TCHERNOF e DESPRÉS, 2013), particularmente por dois mecanismos: no excesso de peso, além da alteração na secreção de adipocitocinas sobre o hipotálamo gerar um aumento no consumo alimentar e redução do gasto energético, o acúmulo de gordura corporal (BOURET *et al.*, 2004; AHIMA *et al.*, 2008; SAMUEL e SHULMAN, *et al.*, 2012), e consequente inflamação crônica de baixo grau, leva a uma redução na sensibilidade à insulina muscular e hepática (GALIC *et al.*, 2010). Um estudo, embora em adolescentes na faixa dos 15 e 16 anos, supostamente saudáveis, e de ambos os sexos, encontrou uma associação positiva entre a obesidade, independentemente dos critérios utilizados para sua classificação, e a RI (LIM *et al.*, 2015). Da mesma forma, um estudo anterior, com 4.828 indivíduos brancos de

ambos os sexos, dos 18 aos 80 anos, sugere que a adiposidade corporal exerça um papel relevante na gênese da RI, recomendando neste sentido, que na avaliação da obesidade, sejam consideradas medidas adicionais, como a CC e RCQ, pela ocorrência de um percentual significativo de erro no diagnóstico clínico da obesidade quando é utilizado somente o IMC (GOMEZ-AMBROSI *et al.*, 2011).

Em se tratando de perfil lipídico, destacamos no grupo peso normal (EU), os maiores valores para o CT; e no grupo obeso (OB), níveis mais baixos de HDL-C, e mais elevados de LDL-C e TG; e que esta diferença foi significativa para HDL-C e TG ($p < 0,001$ e $p = 0,067$, respectivamente). No grupo de peso normal (EU): duas pacientes (15,38%) apresentaram níveis altos, e quatro (30,77%) com valores limítrofes de CT; cinco voluntárias (38,46%) tiveram valores menores que o desejável para o HDL-C; uma das voluntárias (7,69%) teve alto nível, e outras duas (15,38%) um valor limítrofe para LDL-C. No grupo obeso, apenas a OB19 apresentou aumento de CT, níveis menores que o desejável de HDL-C, e limítrofe de LDL-C. Também é importante destacar, que além OB19, todas as demais pacientes obesas tiveram resultados menores que o desejável para HDL-C. Em ambos os grupos, todas as voluntárias (100%) apresentaram valores dentro do esperado para o TG.

A relação entre adiposidade e dislipidemia também já está bem estabelecida, normalmente associada a RI, que é o distúrbio metabólico mais comumente ocorrido quando se ganha peso excessivamente (BLÜHER, 2013; KLOP *et al.*, 2013; CASTOLDI *et al.*, 2016). Uma pesquisa em uma amostra de caucasianos e asiáticos adultos jovens, de ambos os sexos, mostrou que a medida da CC estava mais fortemente relacionada aos níveis séricos de lipídios, na comparação ao IMC, o indicando como um precursor mais significativo da homeostase cardiometabólica (BRENNER *et al.*, 2010). Neste sentido, segundo os valores desejáveis, descritos pelas IV e V Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose, para os níveis de CT < 200 mg/dL, HDL-C > 60 mg/dL, LDL-C 100-129 mg/dL e TG < 150 mg/dL (SPOSITO *et al.*, 2007; XAVIER *et al.*, 2013), destacamos que no grupo peso normal (EU), somente 1 voluntária (7,69%; EU1) que apresentou um aumento da CC, teve também um valor limítrofe de CT. Já no grupo obeso (OB), em que 100% das pacientes estavam acima dos pontos de corte para a CC, apenas uma delas (10%; OB19) exibiu um valor limítrofe para CT e LDL-C, e todas as demais voluntárias (100%) do grupo, valores menores que o desejável para HDL-C. Quanto

aos níveis de TG, com aumento provável em indivíduos obesos, seus valores estavam dentro da normalidade na amostra total de voluntárias do estudo. Ainda que em adolescentes, um estudo brasileiro com estudantes de ambos os sexos, entre 14 e 17 anos, mostrou uma associação entre sobrepeso e dislipidemia (CARVALHO *et al.*, 2007).

Na verificação dos marcadores de função renal, no grupo de peso normal (EU), os dados demonstraram uma voluntária (EU1) com nível elevado de ureia (98 mg/dL); outra (EU4), baixo de ureia (12 mg/dL); e uma outra paciente (EU9) com valor aumentado de creatinina (1,14 mg/dL). No grupo obeso (OB), todas as amostras encontravam-se dentro dos parâmetros de normalidade. Embora tenhamos encontrado maiores valores de ureia e creatinina para o grupo peso normal (EU), não houve uma diferença significativa destes parâmetros na comparação entre os grupos. O que se sabe é que no peso excessivo, particularmente na obesidade visceral, há um risco aumentado para o desenvolvimento de algumas manifestações patológicas, como a doença renal crônica, requerendo de forma bastante importante nesta população, a avaliação de marcadores de função renal (KEARNEY *et al.*, 2005). Em nosso estudo, é importante mencionar que no grupo peso normal (EU), a paciente (EU1) que teve um alto nível de ureia (98 mg/dL), também apresentou um aumento da CC (83 cm) e limítrofe de CT (202 mg/dL); enquanto a voluntária (EU9) com aumento de creatinina (1,14), exibiu um nível limítrofe de CT (208 mg/dL) e elevado de glicose (109 mg/dL).

Segundo os resultados da avaliação dos critérios relacionados à presença de SM entre as pacientes de nossos grupos estudo, é possível afirmar que apenas uma das pacientes (10%) do grupo obeso (OB20) preencheu três dos cinco critérios estabelecidos para o diagnóstico clínico de SM (aumento da CC e glicose, e redução de HDL-C) (ALBERTI *et al.*, 2009), o que pode ser explicado pelo rigoroso processo de exclusão utilizado para a captação das voluntárias do estudo. Um aspecto importante, é que a paciente OB20, além do aumento da CC (128 cm) e da RCQ (0,85), também mostrou elevados valores de PAS (121 mmHg) e PAD (93,0 mmHg), glicose (102 mg/dL) e HOMA-IR (5,51), e valores menores de HDL-C (47,0 mg/dL).

Em um estudo que utilizou voluntários saudáveis de ambos os sexos, entre 19 a 64 anos, os critérios mais encontrados na determinação da SM referiram-se aos baixos níveis de HDL-C e aumento da PA (59,3% e 52,5%, respectivamente) (DE CARVALHO VIDIGAL, *et al.*, 2013). Embora sejam poucos os estudos sobre a

prevalência e condições associadas à SM, sua alta prevalência na população adulta brasileira já foi descrita (DE CARVALHO VIDIGAL, *et al.*, 2013; RAMIRES *et al.*, 2018), sendo significativamente mais elevada no sexo feminino, comparativamente ao masculino (RAMIRES *et al.*, 2018). Um estudo transversal brasileiro, o primeiro em uma população Amazonense, composto por 942 adultos e idosos de ambos os sexos, verificou que as principais alterações metabólicas componentes da SM foram: obesidade visceral no sexo feminino (67,3%), aumento da PA no sexo masculino (62,5%), e redução dos níveis de HDL-C no sexo feminino e masculino (65% e 52,2%, respectivamente). Na comparação entre os sexos, houve uma maior prevalência de obesidade visceral, redução de HDL-C e SM entre as mulheres. Sugere-se, que condições adicionais e independentes, como o aumento da idade e do IMC, pertencer ao sexo feminino, ter um menor nível de escolaridade estejam relacionados à gênese da SM (GOUVEIA *et al.*, 2021). Entre as explicações relacionadas à ocorrência da SM, estudos destacam o aumento na prevalência da obesidade e o sedentarismo, fatores cada vez mais evidentes nas últimas décadas (LÓPEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2013; PÉREZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2017; RAMIRES *et al.*, 2018). E ainda que não bem elucidados, além do sexo, já referido acima, outras condições também são descritas, podendo colaborar para o seu estabelecimento, como a predisposição genética (ABOU ZIKI e MANI, 2016); o tabagismo; a alimentação inadequada (rica em carne vermelha, alimentos processados, cereais refinados, e gorduras saturadas) (PÉREZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2017), e o processo do envelhecimento, mostrando um aumento no risco no desenvolvimento de SM com o avançar da idade (DE CARVALHO VIDIGAL, *et al.*, 2013).

Diversos são os estudos que relacionam o desenvolvimento da obesidade e seus transtornos, à influência de condições genéticas e epigenéticas (DABELEA *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2010; HERRERA *et al.*, 2011; MARTINEZ *et al.*, 2012). Há evidências de que nas alterações associadas à obesidade, ocorra uma ação dos miRNAs sobre a secreção das adipocinas e de seus receptores (GHASEMI *et al.*, 2019). Como os miRNAs processados no TAB são naturalmente conduzidos em direção à corrente sanguínea, conseguindo influenciar a fisiologia de tecidos à uma longa distância, seu estudo como um marcador biológico e na terapêutica da obesidade tem sido cada vez mais descrito (LORENTE-CEBRIÁN *et al.*, 2019).

Para uma adequada análise de miRNAs circulantes, devem ser considerados fatores pré-analíticos e analíticos, como a análise do fluido a ser utilizado,

quantidade de centrifugações, e técnica de extração de RNA; bem como uma adequada coleta do sangue periférico e de sua manipulação (KROH *et al.*, 2010). Como material biológico, escolhemos a utilização do soro sanguíneo, segundo os protocolos de Burgos e Keuren-Jensen (2014) e Farina e Colaboradores (2014), já que estudos anteriores apontaram que no uso do plasma sanguíneo, ocorre frequentemente uma contaminação por plaquetas, não permitindo uma análise adequada da expressão do miRNA na doença estudada (MITCHELL *et al.*, 2016).

Em nosso estudo, escolhemos como controle endógeno, o normalizador miR-16, por ter sido apontado em várias pesquisas anteriores como um miRNA de expressão estável, apropriado para o estabelecimento de miRNAs circulantes (HENECHAN *et al.*, 2010; HUANG *et al.*, 2010; SONG *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2012; GHARBI *et al.*, 2015), inclusive relacionado à DCV (WANG *et al.*, 2018a).

Quanto à escolha dos miRNAs de estudo, foi elegível o miR-125b-5p, por seu papel na obesidade, relacionado a adipogênese, com ação fundamental no desenvolvimento dos adipócitos brancos e marrons (GIROUD *et al.*, 2016; GOODY e PFEIFER, 2019), e no metabolismo lipídico e glicídico (CHANG *et al.*, 2019; MENS *et al.*, 2020; MIAO *et al.*, 2022); o miR-574-3p, particularmente por sua associação com a inflamação crônica, relacionada à RI e DM2 (BALDEON *et al.*, 2014); além de miR-370-3p, por suas ações anti-inflamatórias em DCV. Entretanto, como descrito anteriormente, por não ocorrer a amplificação para o miR-370-3p nas amostras analisadas, esta molécula foi excluída do estudo.

É importante lembrar que na análise dos níveis de expressão de miR-125b-5p e miR-574-3p, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de estudo, mesmo após a exclusão das seguintes pacientes (*outlier*): OB8 para miR-125b-5p; e EU15 para miR-574-3p.

Na avaliação da correlação da amostra geral entre os miRNAs e as variáveis estudadas (demográficas, antropométricas, pressóricas e bioquímicas) notamos que não houve correlação entre os dois miRNAs avaliados.

Ao se avaliar os níveis de expressão do miR-125b-5p, destacamos que no grupo obeso (OB), 50% das amostras achavam-se hipoexpressas, em concordância com um estudo relacionado à obesidade mórbida ($IMC \geq 40\text{kg/m}^2$), que verificou uma diminuição da concentração plasmática dos níveis circulantes de miR-125b-5p, apontando para uma desregulação desta molécula na obesidade grave, fortemente relacionada ao volume adiposo (ORTEGA *et al.*, 2013),

resultado este, reafirmado em seguida através de uma meta-análise, que também exibiu uma redução na expressão de miR-125b-5p no sangue de indivíduos obesos (VILLARD *et al.*, 2015), assim como em um estudo mais recente, em adolescentes de 10 a 17 anos, obesos mórbidos ($\text{IMC} \geq 40\text{kg/m}^2$), na comparação àqueles com IMC entre 35 e $< 40\text{kg/m}^2$, estando os níveis de expressão negativamente associados ao padrão de composição corporal, relacionando-se ao IMC, a adiposidade corporal e a CC (LIN *et al.*, 2020). Um estudo com modelos animal e humano, apontou para ambos os casos, que na obesidade há uma expressão mais pronunciada de miR-125b-5p em TAB que no marrom, por uma notável inibição da atividade de adipócitos beges, favorecendo o gasto de oxigênio e a expressão gênica mitocondrial (GIROUD *et al.*, 2016). É importante destacar que a nível celular, em adipócitos, o miR125b-5p pode funcionar como um promotor ou inibidor da adipogênese humana. Uma hiperexpressão de miR125b-5p promove a adipogênese por ação direta e negativa na função anti-adipogênica da enzima MMP11, promovendo o acúmulo de gordura. Em contrapartida, por um efeito anti-adipogênico, possivelmente por sua regulação sobre outras vias promotoras da adipogênese ainda não conhecidas, a hiperexpressão de miR125b-5p diminuiu o depósito de gordura (ROCKSTROH *et al.*, 2016). Já na perda de peso corporal e aumento metabólico resultante da cirurgia bariátrica, tratamento utilizado eficazmente no controle da obesidade mórbida e de comorbidades associadas (SJÖSTRÖM, 2013), um estudo realizado em pacientes não diabéticos submetidos ao *bypass* gástrico em Y de Roux verificou para o miR-125b-5p: um aumento de sua expressão plasmática após 9 meses do procedimento cirúrgico; uma correlação significativa, e positiva na expressão de miR-125b-5p com o IMC, e negativa pelo percentual de excesso de peso perdido após a intervenção (ALKANDARI *et al.*, 2018).

Quanto à observação da correlação positiva muito fraca de miR-125b-5p com TG, embora não tenhamos encontrado alterações nos níveis de TG entre nossas voluntárias, vale apontar que 82,61% de nossas amostras totais, e 100% do grupo obeso (OB) demonstraram alterações nos demais marcadores relacionados com o metabolismo lipídico. Contrariamente a nossos resultados, uma pesquisa que avaliou a relação entre níveis da expressão plasmática e parâmetros de risco cardiometabólicos, miR-125b-5p foi positivamente relacionado aos níveis séricos de CT, podendo funcionar como um biomarcador hábil na identificação inicial ou

corrente da DM2 e doença arterial coronariana, relacionado ao metabolismo de lipídios em humanos (MENS *et al.*, 2020). Em modelo animal, a hiperexpressão miR-125b-5p provocou uma elevação intensa da concentração lipídica nos tecidos cardíaco, cerebral e hepático de peixe-zebra, podendo servir como molécula de interesse, aplicada no tratamento medicamentoso da hiperlipidemia, e como parâmetro para o avanço no uso farmacológico de miRNA (WANG *et al.*, 2018b).

Uma correlação muito fraca de miR-125b-5p também foi constatada com a creatinina. Percebemos uma paciente do grupo peso normal (EU9), com elevação da creatinina (1,14 mg/dL) e hiperexpressão de miR-125b-5p. Uma pesquisa que correlacionou o risco no desenvolvimento de lesão renal obstrutiva, em amostras de sangue de indivíduos de ambos os sexos, e a expressão de miR-125b-5p, mostrou uma expressão significativamente menor deste miRNA em pacientes com obstrução ureteral na comparação aos controles; níveis mais elevados de miR-125b-5p em mulheres, particularmente mais jovens; correlação negativa na expressão de miR-125b-5p aos valores séricos de creatinina, supostamente por ação desta molécula no distúrbio renal e a possível utilização de miR-125b-5p como um marcador biológico protetor da lesão renal obstrutiva (WANG *et al.*, 2017). Vale ressaltar que nossa voluntária EU9 também apresentou um nível limítrofe de CT (208 mg/dL) e elevado de glicose (109 mg/dL) e uma TFG ligeiramente reduzida (67 mL/min/1,73²). É importante o seguimento dessa paciente uma vez que existe uma associação entre a hiperglicemia e dislipidemia com o no risco do desenvolvimento da DRC. Entretanto, pequenas variações na TFG ocorrem comumente, sem necessariamente indicar o desenvolvimento da doença. Para uma avaliação mais detalhada, além da TFG, outros critérios devem ser considerados, como a idade; sexo; raça/etnia; nível de albuminúria; aumento da PA; presença de hiperglicemia, dislipidemia e obesidade; doença cardiovascular prévia; constante exposição a condições nefrotóxicas, e tabagismo (KDIGO, 2013).

Ao se avaliar no nível de expressão de miR-574-3p (sem EU15) percebemos uma hiperexpressão desta molécula em 50% da amostra total. Um trabalho com voluntários obesos não diabéticos no pré e pós-operatório de *bypass* gástrico em Y de Roux mostrou um aumento significativo de miR-574-3p após 30 dias do procedimento bariátrico, sem correlação deste miRNA com o IMC, percentual de perda de peso após a cirurgia, idade e glicemia de jejum (ALKANDARI *et al.*, 2018).

Como já mencionado, a obesidade visceral configura um dos recursos mais significativos na promoção da resistência à insulina e condições relacionadas (BALISTRERI *et al.*, 2010; TCHERNOF e DESPRÉS, 2013). Há evidências de uma habilidade de miR-574-3p na hiperglicemia, atuando como um regulador da proteína arginina metiltransferase (PRMT1, do inglês, *Protein Arginine Methyltransferase 1*), notável nos distúrbios de células β pancreáticas decorridos da toxicidade da glicose, normalmente observada em indivíduos DM2, estimulando a proliferação celular, a melhora da secreção insulínica e dos níveis de GLUT1, além de interromper a apoptose e promover uma diminuição dos níveis de produtos finais da glicação avançada (AGEs, do inglês, *Advanced Glycation End-products*) e das espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês, *Reactive Oxygen Species*) (NV *et al.*, 2022). Bijkerk e Colaboradores (2015), apontaram a medida da redução plasmática de miR-574-3p como ferramenta preditiva no desenvolvimento de nefropatia diabética. Outros estudos, também mostraram uma regulação negativa de miR-574-3p em voluntários diabéticos tipo 1 (ASSMANN *et al.*, 2017); e um nível de expressão significativamente reduzida no soro de diabéticos tipo 2, consequente do processo inflamatório da doença (BALDEON *et al.*, 2014; ROJAS *et al.*, 2016), correlacionando-se positivamente aos níveis de CCL2 (ROJAS *et al.*, 2016), uma quimiocina que atua na quimiotaxia de monócitos e macrófagos em direção a áreas inflamadas (CONDUCTIER *et al.*, 2010). Neste sentido, o miR-574-3p parece útil como um biomarcador ou alvo no tratamento da DM2 (FENG *et al.*, 2019). Também foi observado um aumento na expressão de miR-574-3p em adipócitos hipertróficos, colaborando para a infiltração de macrófagos (SARTIPY e LOSKUTOFF, 2003; GUSTAFSON, 2010).

É importante ressaltar, como descrito anteriormente, a aplicação dos miRNAs como ferramentas biomarcadoras aplicadas ao prognóstico, diagnóstico cada vez mais precoce, e terapêutica em inúmeras patologias, como no tratamento medicamentoso da obesidade e suas complicações metabólicas relacionadas, tão gravemente descritas no cenário atual, como uma verdadeira epidemia. No entanto, muitos estudos ainda precisam ser realizados para um melhor esclarecimento sobre a participação destas moléculas nas mais diversas vias metabólicas orgânicas. Embora nosso trabalho tenha empregado um tamanho amostral não tão numeroso, clinicamente saudável, e particularmente relacionado ao sexo feminino, nossos resultados são muito positivos e reforçam ainda mais a necessidade da

implementação da utilização simultânea de métodos distintos e combinados para um melhor e mais confiável diagnóstico clínico.

Devemos destacar que na elaboração e resultados desta presente Tese, contamos com aspectos bastante positivos e algumas limitações.

Primeiramente, do ponto de vista positivo, este trabalho tem como principal característica, a natureza de sua população sem igual. Neste sentido, faltam estudos que analisem a expressão humana de miRNAs circulantes e sua correlação com os resultados das variáveis demográficas e clínicas (antropométricas, pressóricas e bioquímicas), bem como sua relação com fatores de risco cardiometabólicos associados à obesidade em uma população multiétnica, como a encontrada nas mais diversas regiões de nosso país, particularmente no Rio de Janeiro, local em que executamos nossa pesquisa, o que torna nosso trabalho bastante original.

Além do mais, esse estudo propõe a pesquisa da utilização da expressão de miRNAs circulantes como possíveis biomarcadores de doenças cardiometabólicas associadas à obesidade, amplamente descrita como uma doença multifatorial e complexa, considerada um grande e preocupante problema de saúde pública, que pode levar ao desenvolvimento de complicações associadas. Assim, compreender a relação destas moléculas na obesidade faz-se fundamental no estabelecimento de ferramentas adicionais, significativas e efetivas no diagnóstico precoce e tratamento desta patologia, e de seus agravos.

Como limitações, destacamos a dificuldade no recrutamento de voluntários para este trabalho, devido ao alto custo de seu desenvolvimento, e ao rigor de sua casuística, em que todos os indivíduos deveriam se apresentar clinicamente saudáveis, mesmo àqueles enquadrados no grupo obeso (OB), respeitando-se todos os critérios de inclusão e exclusão de nosso estudo, o que dificultou o engajamento de um número maior de pacientes que atendessem integralmente às nossas necessidades, fatores que além de indispensáveis, evitam qualquer tipo de confusão que comprometesse a confiabilidade de nossos resultados clínicos. Neste sentido, contamos com uma baixa adesão de voluntários do sexo masculino, particularmente entre o grupo de eutróficos, levando à decisão de considerarmos como objeto de estudo somente as mulheres, até por representarem a população de maior prevalência mundial de obesidade, em virtude também, das alterações metabólicas tão evidentes no sexo feminino. Outra característica de escolha, foi a idade mais

jovem dos voluntários (entre 20 e 45 anos), já que pessoas obesas de mais idade tendem a um maior risco no desenvolvimento de doenças.

Outra questão foi a quantificação e distribuição da adiposidade central mensuradas a partir de métodos indiretos, o que pode influenciar no adequado diagnóstico clínico, embora estejamos totalmente respaldados pela literatura, já que estes métodos são amplamente reconhecidos em inúmeros estudos populacionais.

Além do mais, como a população de todo o mundo, fomos surpreendidos por um período, superior a dois anos, de uma inesperada e grave pandemia (COVID-19), o que afetou profundamente nossa produtividade, já que foram alguns meses sem poder realizar nossa pesquisa, e com seu reinício, uma preocupação adicional às já indispensáveis boas práticas de higiene e segurança com nossa saúde, de nossos voluntários, bem como de todas as pessoas que de alguma forma fazem parte deste estudo.

Assim, nosso trabalho pode representar para os profissionais de saúde, no trabalho clínico ou em pesquisa científica, um avanço no estabelecimento de ferramentas inovadoras e adicionais no diagnóstico precoce do risco do desenvolvimento de complicações cardiometabólicas associadas à obesidade. No entanto, salientamos a necessidade de estudos adicionais e contínuos que fundamentem e reforcem nossos achados.

7 CONCLUSÕES

A partir dos nossos resultados, podemos concluir que:

- Em relação à raça, os grupos de estudo foram compostos particularmente por mulheres brancas e pardas, demonstrando nossa diversidade populacional única, intervindo na determinação genética atual;
- Quanto à idade, nossa população teve média de 28,52 ($\pm 6,75$) anos;
- O diagnóstico clínico de obesidade contemplou principalmente o grau I (80% das voluntárias), provavelmente em virtude dos critérios de inclusão e exclusão aplicados ao estudo;
- O grupo obeso (OB), exibiu valores significativamente mais elevados de peso, IMC, circunferência da cintura (CC), circunferência do quadril (CQ), relação cintura/quadril (RCQ), pressão arterial diastólica (PAD) e média (PAM), glicose, insulina, HOMA-IR; e mais baixos de HDL-Colesterol, parâmetros estes, estreitamente relacionados ao desenvolvimento de complicações cardiometabólicas associadas à obesidade, particularmente a visceral;
- Na análise dos parâmetros antropométricos, pressóricos e bioquímicos pelo coeficiente de correlação de *Pearson*, notamos uma correlação positiva muito forte entre IMC e CC ($r = 0,931$, $p < 0,001$), IMC e CQ ($r = 0,943$, $p < 0,001$), além de uma correlação positiva forte entre HOMA-IR e CC ($r = 0,727$, $p < 0,001$);
- Apesar da inclusão de voluntárias clinicamente saudáveis, no grupo obeso (OB), uma das pacientes preencheu três dos cinco critérios para o diagnóstico clínico de SM, com o aumento da CC e glicose, e redução de HDL-C;
- Na avaliação da expressão dos miRNAs entre os grupos do estudo, não houve nenhuma diferença significativa de miR-125b-5p e miR-574-3p, provavelmente devido ao pequeno tamanho amostral;

- Nas análises de correlação da amostra geral para os miRNAs com os parâmetros demográficos, antropométricos, pressóricos e bioquímicos, não foram encontradas correlações significativas. Não houve correlação entre os dois miRNAs analisados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULLAHI, A., JESCHKE, M.G. **White adipose tissue browning: a double-edged sword.** Trends Endocrinol Metab 2016; 27: 542-552.

ABENSUR, H. **"Book: Biomarcadores na Nefrologia."** Roche Diagnóstica Brasil Ltda 2011; São Paulo.

ABOU ZIKI, M.D., MANI, A. **Metabolic syndrome: Genetic insights into disease pathogenesis.** Curr Opin Lipidol 2016; 27: 162-171.

ADAMCZAK, M., WIECEK, A. **The adipose tissue as an endocrine organ.** Semin Nephrol 2013; 33: 2-13.

AHIMA, R.S., LAZAR, M.A. **Adipokines and the peripheral and neural control of energy balance.** Mol Endocrinol 2008; 22:1023-1031.

AHN, J., LEE, H., JUNG, C.H., JEON, T.I., HA, T.Y. **MicroRNA-146b promotes adipogenesis by suppressing the SIRT1-FOXO1 cascade.** EMBO Mol Med 2013; 5: 1602-1612.

ALBERTI, K.G., ZIMMET, P.Z. **Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications, Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation.** Diabet Med 1998; 15: 539-553.

ALBERTI, K.G.M.M., ECKEL, R.H., GRUNDY, S.M., ZIMMET, P.Z., CLEEMAN, J.I., DONATO, K.A., FRUCHAR, J-C., JAMES, P.T., LORIA, C.M., SMITH, S.C. JR. **Harmonizing the Metabolic Syndrome. A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity.** Circulation 2009; 120: 1640-1645.

ALKANDARI, A., ASHRAFIAN, H., SATHYAPALAN, T., SEDMAN, P., DARZI, A., HOLMES, E., ATHANASIOU, T., ATKIN, S.L., GOODERHAM, N.J. **Improved physiology and metabolic flux after Roux-en-Y gastric bypass is associated with temporal changes in the circulating microRNAsome: a longitudinal study in humans.** BMC Obes 2018; 5: 20.

ALVAREZ-GARCIA, I., MISKA, E.A. **MicroRNA functions in animal development and human disease**. Development 2005; 132: 4653-4662.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. **Diagnosis and classification of diabetes mellitus**. Diabetes Care 2006; 29.

ANDERSON, P.J., CRITCHLEY, J.A., CHAN, J.C., COCKRAM, C.S., LEE, Z.S., THOMAS, G.N., TOMLINSON, B. **Factor analysis of the metabolic syndrome: obesity vs insulin resistance as the central abnormality**. Int J Obes Relat Metab Disord 2001; 25: 1782-1788.

APOVIAN, C.M., BIGORNIA, S., MOTT, M., MEYERS, M.R., ULLOOR, J., GAGUA, M., MCDONNELL, M., HESS, D., JOSEPH, L., GOKCE, N. **Adipose macrophage infiltration is associated with insulin resistance and vascular endothelial dysfunction in obese subjects**. Arterioscler Thromb Vascular Biol 2008; 28: 1654-1659.

ARDERN, C.I., JANSSEN, I., ROSS, R., KATZMARZYK, P.T. **Development of health-related waist circumference thresholds within BMI categories**. Obes Res 2004; 12:1094-1103.

ARNER, P., KULYTÉ, A. **MicroRNA regulatory networks in human adipose tissue and obesity**. Nat Rev Endocrinol 2015; 11: 276-288.

ASFERG, C., MØGELVANG, R., FLYVBJERG, A., FRYSTYK, J., JENSEN, J.S., MAROTT, J.L., APPELYARD, M., JENSEN, G.B., JEPPESEN, J. **Leptin, not adiponectin, predicts hypertension in the Copenhagen City Heart Study**. Am J Hypertens 2010; 23: 327-333.

ASHWELL, M., GIBSON, S. **Waist-to-height Ratio as an Indicator of 'Early Health Risk: simpler and more predictive than using a 'matrix' based on BMI and waist circumference**. BMJ Open 2016; 6: e010159.

ASSMANN, T.S., RECAMONDE-MENDOZA, M., DE SOUZA, B.M., CRISPIM, D. **MicroRNA expression profiles and type 1 diabetes mellitus: systematic review and bioinformatic analysis**. Endocri Connect 2017; 6: 773-790.

ASWAD, H., FORTERRE, A., WIKLANDER, O.P.B., VIAL, G., DANTY-BERGER, E., JALABERT, A., LAMAZIÈRE, A., MEUGNIER, E., PESENTI, S., OTT, C., CHIKH, K., EL-ANDALOUSSI, S., VIDAL, H., LEFAI, E., RIEUSSET, J., ROME, S.

Exosomes participate in the alteration of muscle homeostasis during lipid-induced insulin resistance in mice. Diabetologia 2014; 57, 2155-2164.

AVRAM, M.M., AVRAM, A.S., JAMES, W.D. **Subcutaneous fat in normal and diseased states 3. Adipogenesis: from stem cell to fat cell.** J Am Acad Dermatol 2007; 56: 472-492.

AZUSHIMA, K., WAKUI, H., UNEDA, K., HAKU, S., KOBAYASHI, R., OHKI, K., KINGUCHI, S., HARUHARA, K., FUJIKAWA, T., TOYA, Y., UMEMURA, S., TAMURA, K. **Within-visit blood pressure variability and cardiovascular risk factors in hypertensive patients with non-dialysis chronic kidney disease.** Clin Exp Hypertens 2017; 39: 665-671.

BALDEON, R.L., WEIGELT, K., DE WIT, H., OZCAN, B., VAN OUDENAREN, A., SEMPERTEGUI, F., SIJBRANDS, E., GROSSE, L., FREIRE, W., DREXHAGE, H.A., LEENEN, P.J.M. **Decreased serum level of miR-146a as sign of chronic inflammation in type 2 diabetic patients.** PloS One 2014; 9:e115209.

BALDEÓN ROJAS, L., WEIGELT, K., DE WIT, H., OZCAN, B., VAN OUDENAREN, A., SEMPERTEGUI, F., SIJBRANDS, E., GROSSE, L., VAN ZONNE, A.J., DREXHAGE, H.A., LEENEN, P.J.M. **Study on inflammation-related genes and microRNAs, with special emphasis on the vascular repair factor HGF and miR-574-3p, in monocytes and serum of patients with T2D.** Diabetol Metab Syndr 2016; 8: 6.

BALISTRERI, C.R., CARUSO, C., CANDORE, G. **The role of adipose tissue and adipokines in obesity-related inflammatory diseases.** Mediators of Inflamm 2010; 2010: 1-19.

BARTEL, D.P. **MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function.** Cell 2004; 116: 281-297.

BERBER, A., GO´MEZ SANTOS, R., FANGHANEL, G., SANCHEZ- REYES, L. **Anthropometric indexes in the prediction of type 2 diabetes mellitus, hypertension and dyslipidaemia in a Mexican population.** Int J Obes Relat Metab Disord 2001; 25:1794-1799.

BERNSTEIN, E., CAUDY, A.A., HAMMOND, S.M., HANNON, G.J. **Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference.** Nature 2001; 409: 363-366.

BIJKERK, R., DUIJS, J.M.G.J., KHAIROUN, M., TER HORST, C.J.H., VAN DER POL, P., MALLAT, M.J., ROTMANS, J.I., DE VRIES, A.P.J., DE KONING, E.J., DE FIJTER, J.W., RABELINK, T.J., VAN ZONNEVELD, A.J., RENAS, M.E.J. **MicroRNAs circulantes se associam com nefropatia diabética e dano microvascular sistêmico e normalizam após transplante simultâneo de pâncreas-rim.** Transplante Am J 2015; 15: 1081-1090.

BJORBAEK, C., KAHN, B.B. **Leptin signaling in the central nervous system and the periphery.** Recent Prog Horm Res 2004; 59, 305-332.

BLOUIN, K., BOIVIN, A., TCHERNOVÉ, A. **Androgens and body fat distribution.** J Steroid Biochem Mol Biol 2008; 108: 272-280.

BLÜHER, M. **Adipose tissue dysfunction contributes to obesity related metabolic diseases.** Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2013; 27:163-177.

BOHNSACK, M.T., CZAPLINSKI, K., GORLICH, D. **Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs.** RNA 2004; 10: 185-191.

BOMBELLI, M., FACCHETTI, R., SEGA, R., CARUGO, S., FODRI, D., BRAMBILLA, G., GIANNATTASIO, C., GRASSI, G., MANCIA, G. **Impact of body mass index and waist circumference on the long-term risk of diabetes mellitus, hypertension, and cardiac organ damage.** Hypertension 2011; 58:1029-1035.

BOOTH, M.L., HUNTER, C., GORE, C.J., BAUMAN, A., OWEN, N. **The relationship between body mass index and waist circumference: implications for estimates of the population prevalence of overweight.** Int J Obes Relat Metab Disord 2000; 24:1058-1061.

BOSTJANCIC, E., ZIDAR, N., GLAVAC, D. **MicroRNAs and cardiac sarcoplasmic reticulum calcium ATPase-2 in human myocardial infarction: Expression and bioinformatic analysis.** BMC Genom 2012; 13: 552.

BOUSQUET, M., NGUYEN, D., CHEN, C., SHIELDS, L., LODISH, H.F. **MicroRNA-125b transforms myeloid cell lines by repressing multiple mRNA.** Haematologica 2012; 97: 1713-1721.

BOUSQUET, M., QUELEN, C., ROSATI, R., MANSAT-DE MAS, V., LA STARZA, R., BASTARD, C., LIPPERT, E., TALMANT, P., LAFAGE-POCHITALOFF, M., LEROUX, D., GERVAIS, C., VIGUIE, F., LAI, J.L., TERRE, C., BEVERLO, B., SAMBANI, C., HAGEMEIJER, A., MARYNEN, P., DELSOL, G., DASTUGUE, N., MECUCCI, C., BROUSSET, P. **Myeloid cell differentiation arrest by miR-125b-1**

in myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia with the t(2;11)(p21;q23) translocation. J Exp Med 2008; 205: 2499-2506.

BOURET, S.G., DRAPER, S.J., SIMERLY, R.B. **Formation of Projection Pathways from the Arcuate Nucleus of the Hypothalamus to Hypothalamic Regions Implicated in the Neural Control of Feeding Behavior in Mice.** J Neurosci 2004; 24: 2797-2805.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Mais da metade dos adultos estão acima do peso 2015.** Disponível em: <<https://www.unasus.gov.br/noticia/mais-da-metade-dos-brasileiros-estao-acima-do-peso>>. Acesso em: 02 mai. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigitel Brasil 2018.** Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2018. Brasília, DF: MS, 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigitel Brasil 2021.** Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2021. Brasília, DF: MS, 2022.

BRENNER, D.R., TEPYLO, K., ENY, K.M., CAHILL, L.E., EL-SOHEMY, A. **Comparison of body mass index and waist circumference as predictors of cardiometabolic health in a population of young Canadian adults.** Diabetol Metab Syndr 2010; 2: 28.

BRIONES, A.M., NGUYEN, D.C.A., CALLERA, G.E., YOGI, A., BURGER, D., HE, Y., CORRÊA, J.W., GAGNON, A.M., GOMEZ-SANCHEZ, C.E., GOMEZ-SANCHEZ, E.P., SORISKY, A., OOI, T.C., RUZICKA, M., BURNS, K.D., TOUYZ, R.M. **Adipocytes produce aldosterone through calcineurin-dependent signaling pathways: implications in diabetes mellitus-associated obesity and vascular dysfunction.** Hypertension 2012; 59:1069-1078.

BROVKINA, O., NIKITIN, A., KHODYREV, D., SHESTAKOVA, E., SKLYANIK, I., PANEVINA, A., STAFEEV, I., MENSNIKOV, M., KOBELYATSKAYA, A., YURASOV, A., FEDENKO, V., YASHKOV, Y., SHESTAKOVA, M. **Role of MicroRNAs in the Regulation of Subcutaneous White Adipose Tissue in Individuals with Obesity and Without Type 2 Diabetes.** Front Endocrinol 2019; 10: 840.

BRYANT, R.J, PAWLOWSKI, T., CATTO, J.W.F., MARSDEN. G., VESSELLA, R.L., RHEES, B., KUSLICH, C., VISAKORPI, T., HAMDY, F.C. **Changes in circulating microRNA levels associated with prostate cancer.** Br J Cancer 2012; 106: 768-774.

BURGOS, K.L., KEUREN-JENSEN, K.V. **RNA isolation for small RNA Next-generation Sequencing from acellular biofluids.** Methods Mol Biol 2014;1182: 83-92.

CAI, L., HE, J., SONG, Y., ZHAO, K., CUI, W. **Association of obesity with socio-economic factors and obesity-related chronic diseases in rural southwest China.** Public Health 2013;127: 247-251.

CALDERARI, S., DIAWARA, M.R., GARAUD, A., GAUGUIER, D. **Biological roles of microRNAs in the control of insulin secretion and action.** Physiol Genomics 2017; 49:1-10.

CALLEGARI-JACQUES, S.M., GRATTAPAGLIA, D., SALZANO, F.M., SALAMONI, S.P., CROSSETTI, S.G., FERREIRA, M.E., HUTZ, M.H. **Historical genetics: spatiotemporal analysis of the formation of the Brazilian population.** Am J Hum Biol 2003; 15: 824-834.

CAMAN, O.K., CALLING, S., MIDLÖV, P., SUNDQUIST, J., SUNDQUIST, K., JOHANSSON, S.E. **Longitudinal age-and cohort trends in body mass index in Sweden – a 24-year follow-up study.** BMC Public Health 2013; 13:893.

CAMERON, A.J., BOYKO, E.J., SICREE, R.A., ZIMMET, P.Z., SÖDERBERG, S., ALBERTI, K.G., TUOMILEHTO, J., CHITSON, P., SHAW. J.E. **Central obesity as a precursor to the metabolic syndrome in the Aus Diab study and Mauritius.** Obesity 2008; 16: 2707-2716.

CANNON, B., NEDERGAARD, J. **Brown adipose tissue: function and physiological significance.** Physiol Rev 2004; 84: 277-359.

CARR, D.B., UTZSCHNEIDER, K.M., HULL, R.L., KODAMA, K., RETZLAFF, B.M., BRUNZELL, J.D., SHOFER, J.B., FISH, B.E., KNOPP, R.H., KAHN, S.E. **Intra-abdominal fat is a major determinant of the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III criteria for the metabolic syndrome.** Diabetes 2004; 53: 2087-2094.

CARR, M.C., BRUNZELL, J.D. **Abdominal obesity and dyslipidemia in the metabolic syndrome: importance of type 2 diabetes and familial combined hyperlipidemia in coronary artery disease risk.** J Clin Endocrinol Metab 2004; 89: 2601-2607.

CARVALHO, D.F., PAIVA, A.A., MELO, A.S.O, RAMOS, A.T., MEDEIROS, J.S., MEDEIROS, C.C.M., CARDOSO, M.A.A. **Perfil lipídico e estado nutricional de adolescentes.** Rev Bras Epidemiol 2007; 10: 491-498.

CASTOLDI, A., NAFFAH DE SOUZA, C., CAMARA, N.O., MORRAES-VIEIRA, P.M. **The macrophage switch in obesity development.** Front Immunol 2016; 6: 637.

CASTRO-VILLEGAS, C., PÉREZ-SÁNCHEZ, C., ESCUDERO, A., FILIPESCU, I., VERDU, M., RUIZ-LIMÓN, P., AGUIRRE, M.A., JIMÉNEZ-GOMEZ, Y., FONT, P., RODRIGUEZ-ARIZA, A., PEINADO, J.R., COLLANTES-ESTÉVEZ, E., GONZÁLEZ-CONEJERO, R., MARTINEZ, C., BARBARROJA, N., LÓPEZ-PEDRERA, C. **Circulating miRNAs as potential biomarkers of therapy effectiveness in rheumatoid arthritis patients treated with anti-TNF α .** Arthritis Res Ther 2015; 17: 49.

CHANG, W., XIAO, D., AO, X., LI, M., XU, T., WANG, J. **Increased Dynamin-Related Protein 1-Dependent Mitochondrial Fission Contributes to High-Fat-Diet-Induced Cardiac Dysfunction and Insulin Resistance by Elevating Tafazzin in Mouse Hearts.** Mol Nutr Food Res 2019; 63: e1801322.

CHAPIRO, E., RUSSELL, L.J., STRUSKI, S., CAVE, H., RADFORD-WEISS, I., VALLE, V.D., LACHENAUD, J., BROUSSET, P., BERNARD, O.A., HARRISON, C.J., NGUYEN-KHAC, F. **A new recurrent translocation t(11;14)(q24;q32) involving IGH@ and miR-125b-1 in B-cell progenitor acute lymphoblastic leukemia.** Leukemia 2010; 24: 1362-1364.

CHEN, H., LIANG, J., ZHANG, K., ZEN, K., ZHANG, C. **Secreted microRNAs: a new form of intercellular communication.** Trends in Cell Biology 2012; 22: 125-132.

CHEN, M., XIA, Y., TAN, Y., JIANG, G., JIN, H., CHEN, Y. **Downregulation of microRNA-370 in esophageal squamous-cell carcinoma is associated with cancer progression and promotes cancer cell proliferation via upregulating PIN1.** Gene 2018; 661: 68-77.

CHOI, H.M., KIM, H.C., KANG, D.R. **Sex differences in hypertension prevalence and control: Analysis of the 2010-2014 Korea National Health and Nutrition Examination Survey.** PLoS ONE 2017;12: e0178334.

CINTI, S. **The adipose organ at a glance.** Dis Model Mech 2012; 5: 588–594.

CONDUCTIER, G., BLONDEAU, N., GUYON, A., NAHON, J.L., ROVÈRE, C. **The role of monocyte chemoattractant protein MCP1/CCL2 in neuroinflammatory diseases.** J neuroimmunol 2010; 224: 93.

CONSIDINE, R.V., CARO, J.F. **Leptin: genes, concepts and clinical perspective.** Horm Res 1996; 46: 249-256.

CORNIER, M.A., DABELEA, D., HERNANDEZ, T.L., LINDSTROM, R.C., STEIG, A.J., STOB, N.R., PELT, R.E.V., WANG, H., ECKEL, R.H. **The Metabolic Syndrome.** Endocr Rev 2008; 29: 777-822.

COSAR, E., MAMILLAPALLI, R., ERSOY, G.S., CHO. S., SEIFER. B., TAYLOR. H.S. **Serum microRNAs as diagnostic markers of endometriosis: a comprehensive array-based analysis.** Fertil Steril 2016; 106: 402-409.

CULLEN, B.R. **Transcription and processing of human microRNA precursors.** Mol Cell 2004; 16: 861-865.

DA COSTA, L.A., ARORA, P., GARCÍA-BAILO, B., KARMALI, M., EL-SOHEMY, A., BADAWI, A. **The association between obesity, cardiometabolic disease biomarkers, and innate immunity-related inflammation in Canadian adults.** Diabetes Metab Syndr Obes 2012; 5: 347-355.

DA SILVA, A.A., DO CARMO, J.M., HALL, J.E. **Role of leptin and CNS melanocortins in obesity hypertension.** Curropin in Nephrol Hypertens 2013; 22: 135.

DABELEA, D., MAYER-DAVIS, E.J., LAMICHHANE, A.P., D'AGOSTINO, R.B. JR., LIESE, A.D., VEHIK, K.S., NARAYAN, K.M., ZEITLER, P., HAMMAN, R.F. **Association of intrauterine exposure to maternal diabetes and obesity with type 2 diabetes in youth: the SEARCH Case-Control Study.** Diabetes Care 2008; 31: 1422-1426.

DE ABREU, V.G., MARTINS, C.J.D.M., DE OLIVEIRA, P.A.C., FRANCISCHETTI, E. A. **High-molecular weight adiponectin/HOMA-IR ratio as a biomarker of metabolic syndrome in urban multiethnic Brazilian subjects.** PLoS One 2017, 12: e0180947.

DE CARVALHO VIDIGAL, F., BRESSAN, J., BABIO, N., SALAS-SALVADÓ, J. **Prevalence of metabolic syndrome in Brazilian adults: A systematic review.** BMC Public Health. 2013; 13: 1198.

DE SOUZA, F., MUXFELDT, E., FISZMAN, R., SALLES, G. **Efficacy of spironolactone therapy in patients with true resistant hypertension.** Hypertension 2010; 55: 147-152.

DEFRONZO, R.A., COOKE, C.R., ANDRES, A., FALOONA, G.R., DAVIS, P.J. **The effect of insulin on renal handling of sodium, potassium, calcium, and phosphate in man.** J Clin Invest 1975; 55: 845-855.

DEFRONZO, R.A., FERRANNINI, E. **Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease.** Diabetes Care 1991; 14: 173-194.

DENG, Z.B., POLIAKOV, A., HARDY, R.W., CLEMENTS, R., LIU, C., LIU, Y., WANG, J., XIANG, X., ZHANG, S., ZHUANG, X., SHAH, S.V., SUN, D., MICHALEK, S., GRIZZLE, W.E., GARVEY, T., MOBLEY, J., ZHANG, H.G. **Adipose tissue exosome-like vesicles mediate activation of macrophage-induced insulin resistance.** Diabetes 2009; 58, 2498-2505.

DENLI, A.M., TOPS, B.B., PLASTERK, R.H., KETTING, R.F., HANNON, G.J. **Processing of primary microRNAs by the Microprocessor complex.** Nature 2004; 432: 231-235.

DERGHAL, A., DJELLOUL, M., TROUSLARD, J., MOUNIEN, L. **An Emerging Role of micro-RNA in the Effect of the Endocrine Disruptors.** Front Neurosci 2016; 10: 318.

DEZONNE, R.S., PEREIRA, C.M., DE MORAES MARTINS, C.J., DE ABREU, V.G., FRANCISCHETTI, E.A. **Adiponectin, the adiponectin paradox, and Alzheimer's Disease: Is this association biologically plausible?.** Metab Brain Dis 2022, 1-13.

DUMBAR, J.C., LU, H. **Leptin-induced increase in sympathetic nervous and cardiovascular tone os mediated by proopiomelanocortina (POMC) products.** Brain Res Bull 1999; 5: 215-221.

ECKEL, R.H., GRUNDY, S.M., ZIMMET, P.Z. **The metabolic syndrome.** Lancet 2005; 365: 1415-1428.

EKSTEDT, M., FRANZÉN, L.E., MATHIESEN, U.L., THORELIUS, L., HOLMQVIST, M., BODEMAR, G., KECHAGIAS, S. **Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes.** Hepatology 2006; 44: 865-873.

FARINA, N.H., WOOD, M.E., PERRAPATO, S.D., FRANCKLYN, C.S., STEIN, G.S., STEIN, J.L., LIAN, J.B. **Standardizing analysis of circulating microRNA: clinical and biological relevance.** J Cell Biochem 2014; 115: 805-811.

FENG, T., LI, K., ZHENG, P., WANG, Y., LV, Y., SHEN, L., CHEN, Y., XUE, Z., LI, B., JIN, L., YAO, Y. **Weighted gene coexpression network analysis identified microRNA coexpression modules and related pathways in type 2 diabetes mellitus.** Oxid Med Cell Longev 2019; 2019: 9567641.

FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, A., MADRIGAL-SANTILLÁN, E., BAUTISTA, M., ESQUIVEL-SOTO, J., MORALES-GONZÁLEZ, A., ESQUIVEL-CHIRINO, C., DURANTE-MONTIEL, I., SÁNCHEZ-RIVERA, G., VALADEZ-VEGA, C., MORALES-GONZÁLEZ, J.A. **Inflammation, oxidative stress, and obesity.** Int J Mol Sci 2011; 12: 3117-3132.

FERNANDO, T.R., RODRIGUEZ-MALAVE, N.I., RAO, D.S. **MicroRNAs in B cell development and malignancy.** J Hematol Oncol 2012; 5:7.

FERRANNINI, E., NATALI, A. **Essential hypertension, metabolic disorders, and insulin resistance.** Am Heart J 1991; 121:1274-1282.

FIGLIOLINI, F., CANTALUPPI, V., DE LENA, M., BELTRAMO, S., ROMAGNOLI, R., SALIZZONI, M., MELZI, R., NANO, R., PIEMONTI, L., TETTA, C., BIANCONE, L., CAMUSSI, G. **Isolation, characterization and potential role in beta cell-endothelium cross-talk of extracellular vesicles released from human pancreatic islets.** PLoS ONE 2014; 9, e102521.

FRANCISCHETTI, E.A., DEZONNE, R.S., PEREIRA, C.M., DE MORAES MARTINS, C.J., CELORIA, B.M.J., DE OLIVEIRA, P.A.C., DE ABREU, V.G. **Insights sobre os aspectos controversos da adiponectina em distúrbios cardiometabólicos.** Horm Metab Res 2020; 52: 695-707.

FREDERICH, R.C., HAMANN, A., ANDERSON, S., LÖLLMANN, B., LOWELL, B.B., FLIER, J.S. **Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action.** Nat Med 1995; 1: 1311–1314.

FRIEDMAN, J.M. **The function of leptin in nutrition, weight and physiology.** Nutr Rev 2002; 60: S1-S14.

FRIEDWALD, W.T., LEVY, R.I., FREDRICKSON, D.S. **Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge.** Clin Chem 1972; 18: 499-502.

GALIC, S., OAKHILL, J.S., STEINBERG, G.R. **Adipose tissue as an endocrine organ.** Mol Cell Endocrinol 2010; 316: 129-139.

GAO, W., HE, H.W., WANG, Z.M., ZHAO, H., LIAN, X.Q., WANG, Y.S., ZHU, J., YAN, J.J., ZHANG, D.G., YANG, Z.J., WANG, L.S. **Plasma levels of lipometabolism-related miR-122 and miR-370 are increased in patients with hyperlipidemia and associated with coronary artery disease.** Lipids in Health and Disease 2012; 11, 55.

GBD 2013 RISK FACTORS COLLABORATORS. **Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risk factors or clusters of risks in 188 countries, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013.** Lancet 2015; 386: 2287-2323.

GELONEZE, B., REPETTO, E.M, GELONEZE, S.R, TAMBASCIA, M.A, ERMETICE, M.N. **The threshold value for insulin resistance (HOMA-IR) in an admixed population. IR in the Brazilian Metabolic Syndrome Study.** Diabetes Res Clin Pract 2006; 72: 219-220.

GHARBI, S., SHAMSARA, M., KHATERI, S., SOROUSH, M.R., GHORBANMEHR, N., TAVALLAEI, M., NOURANI, M.R., MOWLA, S.J. **Identification of reliable reference genes for quantification of microRNAs in serum samples of sulfur mustard-exposed veterans.** Cell J. 2015; 17: 494-501.

GHASEMI, A., HASHEMY, S.I., AZIMI-NEZHAD, M., DEHGHANI, A., SAEIDI, J., MOHTASHAMI, M. **The cross-talk between adipokines and miRNAs in health and obesity-mediated diseases.** Clin Chim Acta 2019; 499, 41-53.

GHOSH, S., MUKHOPADHYAY, S., BARIK, A. **Sex differences in the risk profile of hypertension: A cross-sectional study.** BMJ Open 2016; 6.

GIROUD, M., PISANI, D.F., KARBIENER, M., BARQUISSAU, V., GHANDOUR, R.A., TEWS, D., FISCHER-POSOVSZKY, P., CHAMBARD, J.C., KNIPPSCHILD, U.,

NIEMI, T., TAITTONEN, M., NUUTILA, P., WABITSCH, M., HERZIG, S., VIRTANEN, K.A., LANGIN, D., SCHEIDELER, M., AMRI, E.Z. **miR-125b affects mitochondrial biogenesis and impairs brite adipocyte formation and function.** Mol Metab 2016; 5: 615-625.

GODINHO, N.M.O., GONTIJO, C.C., DINIZ, M.E.C.G., FALCÃO-ALENCAR, G., DALTON, G.C., AMORIM, C.E.G., BARCELOS, R.S.S., KLAUTAU-GUIMARÃES, M.N., OLIVEIRA, S.F. **Regional patterns of genetic admixture in South America.** For Sci Int 2008; 1: 329-330.

GÓMEZ-AMBROSI, J., SILVA, C., GALOFRÉ, J.C., ESCALADA, J., SANTOS, S., GIL, M.J., VALENTÍ, V., ROTELLAR, F., RAMÍREZ, B., SALVADOR, J., FRÜHBECK, G. **Body adiposity and type 2 diabetes: increased risk with a high body fat percentage even having a normal BMI.** Obesity 2011; 19:1439-1444.

GOODY, D., PFEIFER, A. **MicroRNAs in brown and beige fat.** Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids 2019; 1864: 29-36.

GOUVEIA, E. R., GOUVEIA, B. R., MARQUES, A., PERALTA, M., FRANÇA, C., LIMA, A., CAMPOS, A., JUREMA, J., KLIEGEL, M., IHLE, A. **Predictors of Metabolic Syndrome in Adults and Older Adults from Amazonas, Brazil.** Int J Environ Res Public Health 2021; 18: 1303.

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

GREGOR, M.F., HOTAMISLIGIL, G.S. **Inflammatory Mechanisms in Obesity.** Annu Rev Immunol 2011; 29: 415- 445.

GREGORY, R.I., YAN, K.P., AMUTHAN, G., CHENDRIMADA, T., DORATOTAJ, B., COOCH, N., SHIEKHATTAR, R. **The Microprocessor complex mediates the genesis of microRNAs.** Nature 2004; 432: 235-240.

GRILL, H.J., SCHWARTZ, M.W., KAPLAN, J.M., FOXHALL, J.S., BREININGER, J., BASKIN, D.G. **Evidence that the caudal brainstem is a target for the inhibitory effect of leptin on food intake.** Endocrinology 2002;143: 239-246.

GRUNDY, S.M. **Metabolic syndrome update.** Trends Cardiovasc Med 2016; 26: 364-373.

GRUNDY, S.M. **Obesity, Metabolic syndrome, and cardiovascular disease.** J Clin Endocrinol Metab 2004; 89: 2595-2600.

GRUNDY, S.M., CLEEMAN, J.I., DANIELS, S.R., DONATO, K.A., ECKEL, R.H., FRANKLIN, B.A., GORDON, D.J., KRAUSS, R.M., SAVAGE, P.J., SMITH, S.C.J.R., SPERTUS, J.A., COSTA. F. **Diagnosis and management of the metabolic syndrome. An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement.** Circulation 2005; 112: 2735-2752.

GUARENTE, L. **Sirtuins as potential targets for metabolic syndrome.** Nature 2006; 444: 868-874.

GUAY, C., MENOUD, V., ROME, S., REGAZZI, R. **Horizontal transfer of exosomal microRNAs transduce apoptotic signals between pancreatic beta-cells.** Cell Commun Signal 2015; 13, 17.

GUAY, C., REGAZZI, R. **Exosomes as new players in metabolic organ cross-talk.** Diabetes, Obesity and Metabolism 2017; 19: 137-146.

GUILHERME, A., VIRBASIS, J. V., PURI, V., CZECH, M. P. **Adipocyte Dysfunctions Linking Obesity to Insulin Resistance and Type 2 Diabetes.** Nat Rev Mol Cell Biol 2008; 9: 367-377.

GUSTAFSON, B. **Adipose Tissue, Inflammation and Atherosclerosis.** J Atheroscler Thromb 2010; 17: 332-341.

HAIDAR. Y.M., COSMAN, B.C. **Obesity epidemiology.** Clin Colon Rectal Surg 2011; 24: 205-210.

HALES, C.N, BARKER, D.J. **Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis.** Diabetologia 1992; 35: 595-601.

HALL, J.E., DO CARMO, J.M., DA SILVA, A.A., WANG, Z., HALL, M.E. **Obesity-induced hypertension: interaction of neurohumoral and renal mechanisms.** Circ Res 2015; 116: 991-1006.

HALL, J.E., HILDEBRANDT, D.A., KUO, J. **Obesity Hypertension: role of leptin and sympathetic nervous system.** Am J Hypertens 2001; 14: 103S-115S.

HARMS, D., CHOI, M., ALLERS, K., WANG, B., PIETSCH, H., PAPP, C.P., HANISCH, L., KURRECK, J., HOFMANN, J., BOCK, C.T. **Specific circulating microRNAs during hepatitis E infection can serve as indicator for chronic hepatitis E.** Sci Rep 2020; 10: 5337.

HARMS, M., SEALE, P. **Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential.** Nat Med 2013; 19: 1252-1263.

HARRIS, M.F. **The metabolic syndrome.** Aust Fam Physician 2013; 42: 524-527.

HE, X. W., SHI, Y. H., LIU, Y. S., LI, G. F., ZHAO, R., HU, Y., LIN, C. C., ZHUANG, M. T., SU, J. J., LIU, J. R. **Increased plasma levels of miR-124-3p, miR-125b-5p and miR-192-5p are associated with outcomes in acute ischaemic stroke patients receiving thrombolysis.** Atherosclerosis 2019; 289: 36-43.

HEBER, D. **An integrative view of obesity.** Am J Clin Nutr 2010; 91: 280S-3S.

HEITMANN, B. L., FREDERIKSEN, P., LISSNER, L. **Hip circumference and cardiovascular morbidity and mortality in men and women.** Obes Res 2004; 12: 482-487.

HERRERA, B.M., KEILDSON, S., LINDGREN, C.M. **Genetics and epigenetics of obesity.** Maturitas 2011; 69: 41-49.

HILTON, C., NEVILLE, M.J., KARPE, F. **MicroRNAs in adipose tissue: their role in adipogenesis and obesity.** Int J Obes 2013; 37: 325-332.

HOBERT, O. **Gene regulation by transcription factors and microRNAs.** Science 2008; 319: 1785-1786.

HUANG, L., LUO, J., CAI, Q., PAN, Q., ZENG, H., GUO, Z., DONG, W., HUANG, J., LIN, T. **MicroRNA-125b suppresses the development of bladder cancer by targeting E2F3.** Int J Cancer 2011; 128: 1758-1769.

HUANG, Z., HUANG, D., NI, S., PENG, Z., SHENG, W., DU, X. **Plasma microRNAs are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer.** Int J Cancer 2010; 127:118-126.

HUANG-DORAN, I., ZHANG, C.Y., VIDAL-PUIG, A. **Extracellular Vesicles: Novel Mediators of Cell Communication In Metabolic Disease.** Trends Endocrinol Metab 2017; 28: 3-18.

INCORONATO, M., GRIMALDI, A.M., MIRABELLI, P., CAVALIERE, C., PARENTE, C.A., FRANZESE, M., STAIBANO, S., ILARDI, G., RUSSO, D., SORICELLI, A., CATALANO, O.A., SALVATORE, M. **Circulating miRNAs in Untreated Breast Cancer: An Exploratory Multimodality Morpho-Functional Study.** Cancers 2019; 11: 876.

INSTITUTE FOR HEALTH METRICS AND EVALUATION (IHME). **Findings from the global burden of disease study 2017.** 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Pesquisa de orçamentos Familiares 2008-2009: antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil.** 2010.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION (IDF). **The IDF consensus worldwide definition of the Metabolic Syndrome.** 2006. Disponível em: <http://www.idf.org/webdata/docs/IDF_Meta_def_final.pdf>. Acesso: 10 abr. 2020.

ISLAM, J.Y., ZAMAN, M.M., AHMED, J.U., CHOUDHURY, S.R., KHAN, H., ZISSAN T. **Sex differences in prevalence and determinants of hypertension among adults: a cross-sectional survey of one rural village in Bangladesh.** BMJ Open 2020; 10: e037546.

JACOBSEN, B.K., AARS, N.A. **Changes in body mass index and the prevalence of obesity during 1994-2008: repeated cross-sectional surveys and longitudinal analyses. The Tromsø Study.** BMJ Open 2015; 5: e007859.

JENSEN, M.D., CARUSO, M., HEILING, V., MILES, J.M. **Insulin regulation of lipolysis in nondiabetic and IDDM subjects.** Diabetes 1989; 38: 1595-1601.

JIA, H.Y., WANG, Y.X., YAN, W.T., LI, H.Y., TIAN, Y.Z., WANG, S.M., ZHAO, H.L. **MicroRNA125b Functions as a Tumor Suppressor in Hepatocellular Carcinoma Cells.** Int J Mol Sci 2012; 13: 8762–8774.

JIA, K., SHI, P., HAN, X., CHEN, T., TANG, H., WANG, J. **Diagnostic value of miR-30d-5p and miR-125b-5p in acute myocardial infarction.** Mol Med Rep 2016; 14: 184-194.

JIANG, Y., LUAN, Y., CHANG, H., CHEN, G. **The diagnostic and prognostic value of plasma microRNA-125b-5p in patients with multiple myeloma.** *Oncol Lett* 2018; 16: 4001-4007.

KAJANTIE, E., STRANG-KARLSSON, S., HOVI, P., WEHKALAMPI, K., LAHTI, J., KASEVA, N., JÄRVENPÄÄ, A.L., RÄIKKÖNEN, K., ERIKSSON, J.G., ANDERSSON, S. **Insulin sensitivity and secretory response in adults born preterm: the Helsinki study of very low birth weight adults.** *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100: 244–250.

KAPLAN, N.M. **The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension.** *Arch Intern Med* 1989; 149:1514-1520.

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* 2009; 390: 247-251.

KARBIENER, M., SCHEIDELER, M. **MicroRNA functions in brite/brown fat e novel perspectives towards anti-obesity strategies.** *Comput Struct Biotechnol J* 2014; 11: 101-105.

KAROLINA, D.S., TAVINTHARAN, S., ARMUGAM, A., SEPRAMANIAM, S., PEK, S.L.T., WONG, M.T.K., LIM, S.C., SUM, C.F., JEYASEELAN, K. **Circulating miRNA profiles in patients with metabolic syndrome.** *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97: E2271-6.

KAUR, J. **A Comprehensive review on metabolic syndrome.** *Cardiol Res Pract* 2014; 2014: 1-21.

KDIGO Kidney Disease: Improving Global Outcomes. CKD Work Group. **KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease.** *Kidney Int Suppl* 2013; 3 (Supl. 1): 1-150.

KEARNEY, P.M., WHELTON, M., REYNOLDS, K., MUNTNER, P., WHELTON, P.K., HE, J. **Global burden of hypertension: analysis of worldwide data.** *Lancet* 2005; 365: 217-223.

HENEGHAN, H.M., MILLER, N., LOWERY, A.J., SWEENEY, K.J., NEWELL, J., KERIN, M.J. **Circulating microRNAs as novel minimally invasive biomarkers for breast cancer.** *Annals of Surgery* 2010; 251: 499-505.

KETTING, R.F., FISCHER, S.E.J., BERNSTEIN, E., SIJEN, T., HANNON, G.J., RONALD, H.A., PLASTERK, R.H.A. **Dicer functions in RNA interference and in synthesis of small RNA involved in developmental timing in *C. elegans*.** *Genes Dev* 2001; 15: 2654-2659.

HIRSOVA, P., IBRAHIM, S.H., KRISHNAN, A., VERMA, V.K., BRONK, S.F., WERNEBURG, N.W., CHARLTON, M.R., SHAH, V.H., MALHI, H., GORES, G.J. **Lipid-induced signaling causes release of inflammatory extracellular vesicles from hepatocytes.** *Gastroenterology* 2016; 150, 956-967.

KLEIN, S., ALLISON, D.B., HEYMSFIELD, S.B., KELLEY, D.E., LEIBEL, R.L., NONAS, C., KAHN, R., Association for Weight Management and Obesity Prevention; NAASO, The Obesity Society; American Society for Nutrition; American Diabetes Association. **Waist circumference and cardiometabolic risk: a consensus statement from Shaping America's Health: Association for Weight Management and Obesity Prevention; NAASO, The Obesity Society; the American Society for Nutrition; and the American Diabetes Association.** *Am J Clin Nutr* 2007; 85:1197-1202.

KLOP, B., ELTE, J.W.F., CABEZAS, M.C. **Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets.** *Nutrients* 2013; 5: 1218-1240.

KOECK, E.S., IORDANSKAIA, T., SEVILLA, S., FERRANTE, S.C., HUBAL, M.J., FREISHTAT, R.J., NADLER, E.P. **Adipocyte exosomes induce transforming growth factor beta pathway dysregulation in hepatocytes: a novel paradigm for obesity-related liver disease.** *J Surg Res* 2014; 192, 268-275.

KOLEGANOVA, N., PIECHA, G., RITZ, E. **Prenatal causes of kidney disease.** *Blood Purif* 2009; 27:48-52.

KORNEK, M., LYNCH, M., MEHTA, S.H., LAI, M., EXLEY, M., AFDHAL, N.H., SCHUPPAN, D. **Circulating microparticles as disease specific biomarkers of severity of inflammation in patients with hepatitis C or nonalcoholic steatohepatitis.** *Gastroenterology* 2012; 143, 448-458.

KRANENDONK, M.E.G., VISSEREN, F.L.J., VAN BALKOM, B.W.M., NOLTE-'T HOEN, E.N.M., VAN HERWAARDEN, J.A., DE JAGER, W., SCHIPPER, H.S.,

BRENKMAN, A.B. **Human adipocyte extracellular vesicles in reciprocal signaling between adipocytes and macrophages.** Obesity 2014; 22, 1296-1308.

KRANENDONK, M.E.G., VISSEREN, F.L.J., VAN HERWAARDEN, J.A., NOLTE-'T HOEN, E.N.M., DE JAGER, W., WAUBEN, M.H.M., KALKHOVEN, E. **Effect of extracellular vesicles of human adipose tissue on insulin signaling in liver and muscle cells.** Obesity 2014; 22, 2216-2223.

KRIEGER, D.R., LANDSBERG, L. **Mechanisms in obesity-related hypertension: role of insulin and catecholamines.** Am J Hypertens 1988; 1: 84-90.

KROH, E.M., PARKIN, R.K., MITCHELL, P.S., TEWARI, M. **Analysis of circulating microRNAs biomarkers in plasma and serum using quantitative reverse transcription-PCR (qRT-PCR).** Methods 2010; 50: 298-301.

KRSSAK, M., PETERSEN, F.K., DRESNER, A., DIPIETRO, L., VOGEL, S.M., ROTHMAN, D.L., SHULMAN, G.I., RODEN, M. **Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: a ^1H NMR spectroscopy study.** Diabetologia 1999; 42: 113-116.

KRUTZFELDT, J., STOFFEL, M. **MicroRNAs: a new class of regulatory genes affecting metabolism.** Cell Metab 2006; 4: 9-12.

KURODA, S., UZU, T., FUJII, T., NISHIMURA, M., NAKAMURA, S., INENAGA, T., KIMURA, G. **Role of insulin resistance in the genesis of sodium sensitivity in essential hypertension.** J Hum Hypertens 1999; 13: 257-262.

KURYLOWICZ, A. **MicroRNAs in Human Adipose Tissue Physiology and Dysfunction.** Cells 2021; 10: 3342.

KWOK, K.H.M., LAM, K.S.L., XU, A. **Heterogeneity of white adipose tissue: molecular basis and clinical implications.** Exp Mol Med 2016; 48: e215.

KWON, H., PESSIN, J.E. **Adipokines mediate inflammation and insulin resistance.** Front Endocrinol 2013; 4: 1-13.

LANDRIER, J.F., DERGHAL, A., MOUNIEN, L. **MicroRNAs in Obesity and Related Metabolic Disorders.** Cells 2019; 8: 859.

LAWES, C.M.M., VANDER HOORN, S., RODGERS, A. **International Society of Hypertension. Global burden of blood-pressure-related disease, 2001.** Lancet 2008; 371: 1513-1518.

LEE, H.M., KIM, J.J., KIM, H.J., SHONG, M., KU, B.J., JO, E.K. **Upregulated NLRP3 inflammasome activation in patients with type 2 diabetes.** Diabetes 2013; 62:194-204

LEE, R.C., FEINBAUN R.L., AMBROS, V. **The C. elegans Heterochronic Gene lin-4 Encodes Small RNAs with Antisense Complementarity to *lin-14*.** Cell 1993; 75: 843-854.

LEE, Y., AHN, C., HAN, J., CHOI, H., KIM, J., YIM, J., LEE, J., PROVOST, P., RÅDMARK, O., KIM, S., KIM, V.N. **The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing.** Nature 2003; 425: 415-419.

LEE, Y., JEON, K., LEE, J.T., KIM, S., KIM, V.N. **MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization.** EMBO J 2002; 21: 4663-4670.

LEE, J., KEMPER, J.K. **Controlling SIRT1 expression by microRNAs in health and metabolic disease.** Aging 2010; 2: 527-534.

LEE, Y., KIM, M., HAN, J., YEOM, K., LEE, S., BAEK, S.H., KIM, V.N. **MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II.** EMBO J 2004; 23: 4051–4060.

LEVEY, A.S., STEVENS L.A., SCHMID C.H., ZHANG Y., CASTRO III, A.F., FELDMAN, H.I., KUSEK, J.W., EGGERS, P., LENTE F.V., GREENE, T., CORESH J. **A new equation to estimate glomerular filtration rate.** Ann Intern Med 2009; 150: 604-612.

LIAO, J., LIU, X., GAO, M., WANG, M., WANG, Y., WANG, F., HUANG, W., LIU, G. **Dyslipidemia, steatohepatitis and atherogenesis in lipodystrophic apoE deficient mice with Seipin deletion.** Gene 2018; 648: 82-88.

LIM, S.M., CHOI, D.P., RHEE, Y., KIM, H.C. **Association between obesity indices and insulin resistance among healthy Korean adolescents: the JS high school study.** PLoS One 2015; 10: e0125238.

LIN, H., TAS, E., BØRSHEIM, E., MERCER, K. E. **Circulating miRNA signatures associated with insulin resistance in adolescents with obesity.** Diabetes Metab Syndr Obes 2020; 13: 4929-4939.

LIU, H., YANG, N., FEI, Z., QIU, J., MA, D., LIU, X., CAI, G., LI, S. **Analysis of plasma miR-208a and miR-370 expression levels for early diagnosis of coronary artery disease.** Hypertension 2016; 52: 0-208.

LIVAK, K.J., SCHMITTGEN, T.D. **Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method.** Methods 2001; 25: 402-408.

LONGO, M., ZATTERALE, F., NADERI, J., PARRILLO, L., FORMISANO, P., RACITI, G.A., BEGUINOT, F., MIELE, C. **Adipose Tissue Dysfunction as Determinant of Obesity-Associated Metabolic Complications.** Int J Mol Sci 2019; 20: 2358.

LÓPEZ-JARAMILLO, P., RUEDA-CLAUSEN, C., SILVA, F.A. **The utility of different definitions of metabolic syndrome in Andean population.** Int J Cardiol 2007; 116: 421-422.

LÓPEZ-JARAMILLO, P., SÁNCHEZ, R.A., DIAZ, M., COBOS, L., BRYCE, A., PARRA-CARRILLO, J.Z., LIZCANO, F., LANAS, F., SINAY, I., SIERRA, I.D., PEÑAHERRERA, E., BENDERSKY, M., SCHMID, H., BOTERO, R., URINA, M., LARA, J., FOSS, M.C., MÁRQUEZ, G., HARRAP, S., RAMÍREZ, A.J., ZANCHETTI, A. **Grupo de Especialistas da América Latina. Latin American consensus on hypertension in patients with diabetes type 2 and metabolic syndrome.** Arq Bras Endocrinol Metabol 2013; 58: 205-225.

LÓPEZ-MARTÍNEZ, S., SÁNCHEZ-LÓPEZ, M., SOLERA-MARTINEZ, M., ARIAS-PALENCIA, N., FUENTES-CHACÓN, R.M., MARTÍNEZ-VIZCAÍNO, V. **Physical activity, fitness, and metabolic syndrome in young adults.** Int J Sport Nutr Exerc Metab 2013; 23: 312-321.

LORENTE-CEBRIÁN, S., GONZÁLEZ-MUNIESA, P., MILAGRO, F.I., MARTÍNEZ, J.A. **MicroRNAs and other non-coding RNAs in adipose tissue and obesity: Emerging roles as biomarkers and therapeutic targets.** Clin Sci 2019; 133, 23-40.

LUCHSINGER, J.A. **A work in progress: the metabolic syndrome.** Sci Aging Knowledge Environ 2006; 2006: pe19.

LUKIW, W.J., ALEXANDROV, P.N. **Regulation of complement factor H (CFH) by multiple miRNAs in Alzheimer's disease (AD) brain.** Mol Neurobiol 2012; 46:11-19.

LUKIW, W.J., POGUE, A.I. **Induction of specific micro RNA (miRNA) species by ROS-generating metal sulfates in primary human brain cells.** J Inorg Biochem 2007; 101:1265-1269.

LUND, E., GUTTINGER, S., CALADO, A., DAHLBERG, J.E., KUTAY, U. **Nuclear export of microRNA precursors.** Science 2004; 303: 95-98.

MACHLEIDT, F., SIMON, P., KRAPALIS, A.F., HALLSCHMID, M., LEHNERT, H., SAYK, F. **Experimental hyperleptinemia acutely increases vasoconstrictory sympathetic nerve activity in healthy humans.** J Clin Endocrinol Metab 2013; 98: E491-6

MACREADY, N. **Leptin: 20 years later.** The Lancet 2014; 2: 864.

MAGDALON, J., FESTUCCIA, W.T. **Controle da adiposidade por mTORC1.** Einstein 2017; 15: 507-511.

MALACHIAS, M.V.B., GOMES, M.A.M., NOBRE, F., ALESSI, A., FEITOSA, A.D., COELHO, E.B. **7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial: Capítulo 2- Diagnóstico e Classificação.** Arq Bras Cardiol 2016;107: 7-13.

MALIK, V.S., WILLET, W.C., HU, F.B. **Global obesity: trends, risk factors and policy implications.** Nat Rev Endocrinol 2013; 9: 13-27.

MALHOTRA, A., KANG, B.P., CHEUNG, S., OPAWUMI, D., MEGGS, L.G. **Angiotensin II promotes glucose-induced activation of cardiac protein kinase C isozymes and phosphorylation of troponin I.** Diabetes 2001; 50: 1918-1926.

MANZUR, F., ALVEAR, C., ALAYO'N, A. **Phenotypic and metabolic characterization of the metabolic syndrome in Cartagena de Indias.** Rev Colomb Cardiol 2008; 15: 97-101.

MANTA, F.S.N., PEREIRA, R., ARAÚJO, A.E.B., GITAÍ, D.L.G., SILVA, D.A., Wolfgramm, E.V., PONTES, I.M., AGUIAR, J.I., MORAES, M.O., CARVALHO, E.F., GUSMÃO, L. **Revisiting the genetic ancestry of Brazilians using autosomal AIM-Indels.** PLoS One 2013; 8: e75145.

MARK, A.L., CORREIA, M.L., RAHMOUNI, K., HAYNES, W.G. **Selective leptin resistance: a new concept in leptin physiology with cardiovascular implications.** J Hypertens 2002; 20: 1245-1250.

MARTÍNEZ, J.A., CORDERO, P., CAMPIÓN, J., MILAGRO, F.I. **Interplay of early-life nutritional programming on obesity, inflammation and epigenetic outcomes.** Proc Nutr Soc 2012; 71: 276-283.

MATTHEWS, D.R., HOSKER, J.P., RUDENSKI, A.S., NAYLOR, B.A., TREACHER, D.F., TURNER, R.C. **Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man.** Diabetologia 1985; 28: 412-419.

MATTIE, M.D., BENZ, C.C., BOWERS, J., SENSINGER, K., WONG, L., SCOTT, G.K., FEDELE, V., GINZINGER, D., GETTS, R., HAQQ, C. **Optimized high-throughput microRNA expression profiling provides novel biomarker assessment of clinical prostate and breast cancer biopsies.** Mol Cancer 2006; 5:24.

MEDRANO, S., MONTEAGUDO, M.C., SEQUEIRA-LOPEZ, M.L., PENTZ, E.S., GOMEZ, R.A. **Two microRNAs, miR-330 and miR-125b-5p, mark the juxtaglomerular cell and balance its smooth muscle phenotype.** Am J Physiol Renal Physiol 2012; 302: F29-F37.

MEGNIEN, J.L., DENARIE, N., COCAUL, M., SIMON, A., LEVENSON, J. **Predictive value of waist-to-hip ratio on cardiovascular risk events.** Int J Obes Relat Metab Disord 1999; 23: 90-97.

MENKE, A., MUNTNER, P., WILDMAN, R. P., REYNOLDS, K., HE, J. **Measures of Adiposity and Cardiovascular Disease Risk Factors.** Obesity 2007; 15: 785-795.

MENS, M.M.J., MAAS, S.C.E., KLAP, J., WEVERLING, G.J., KLATSER, P., BRAKENHOFF, J.P.J., VAN MEURS, J.B.J., UITTERLINDEN, A.G., IKRAM, M.A., KAVOUSHI, M., GHANBARI, M. **Multi-Omics Analysis Reveals MicroRNAs Associated With Cardiometabolic Traits.** Front Genet 2020; 11: 110.

MIAO, Y., FU, C., LIAO, M., FANG, F. **Differences in liver microRNA profiling in pigs with low and high feed efficiency.** J Anim Sci Technol 2022; 64: 312-329.

MITCHELL, A.J., GRAY, W.D., HAYEK, S.S., KO, Y.A., THOMAS, S., ROONEY, K., AWAD, M., ROBACK, J.D., QUYYUMI, A., SEARLES, C.D. **Platelets confound the measurement of extracellular miRNA in archived plasma.** Sci Rep 2016; 6:32651.

MOLLAINIEZHAD, H., ESKANDARI, N., POURAZAR, A., SALEHI, M., ANDALIB, A. **Expression of microRNA-370 in human breast cancer compare with normal samples.** Adv Biomed Res 2016; 5: 129.

MORENO-MOYA, J.M., VILELLA, F., SIMÓN, C. **MicroRNA: Key Gene Expression Regulators.** Fertil Steril 2014; 101:1516-23.

MORI, M.A., THOMOU, T., BOUCHER, J., LEE, K.Y., LALLUKKA, S., KIM, J.K., TORRIANI, M., YKI-JÄRVINEN, H., GRINSPOON, S.K., CYPESS, A.M., KAHN, C.R. **Altered miRNA processing disrupts brown/white adipocyte determination and associates with lipodystrophy.** J Clin Invest 2014; 124: 3339-3351.

MORSE, S.A., ZHANG, R., THAKUR, V., REISIN, E. **Hypertension and the metabolic syndrome.** Am J Med Sci 2005; 330: 303-310.

MOURA, R.R., COELHO, A.V.C., BALBINO, V.Q., CROVELLA, S., BRANDÃO, L.A.C. **Meta-analysis of Brazilian genetic admixture and comparison with other Latin America countries.** Am J Hum Biol 2015; 27: 674-680.

MÜLLER, G., SCHNEIDER, M., BIEMER-DAUB, G., WIED, S. **Upregulation of lipid synthesis in small rat adipocytes by microvesicle-associated CD73 from large adipocytes.** Obesity 2011; 19, 1531-1544.

NEDERGAARD, J., BENGTSSON, T., CANNON, B. **Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans.** Am J Physiol Endocrinol Metab 2007; 293: E444-E452.

NEILSON, J.R., SHARP, P.A. **Small RNA regulators of gene expression.** Cell 2008; 134: 899-902.

NISENBLAT, V., SHARKEY, D.J., WANG, Z., EVANS, S.F., HEALEY, M., OHLSSON TEAGUE, E.M.C., PRINT, C.G., ROBERTSON, S.A., HULL, M.L. **Plasma miRNAs Display Limited Potential as Diagnostic Tools for Endometriosis.** J Clin Endocrinol Metab 2019; 104: 1999-2022.

NISHIMURA, S., MANABE, I., NAGASAKI, M., HOSOYA, Y., YAMASHITA, H., FUJITA, H., OHSUGI, M., TOBE, K., KADOWAKI, T., NAGAI, R., SUGIURA, S. **Adipogenesis in obesity requires close interplay between differentiating adipocytes, stromal cells, and blood vessels.** Diabetes 2007; 56: 1517-1526.

NISTALA, R., HAYDEN, M.R., DEMARCO, V.G., HENRIKSEN, E.J., LACKLAND, D.T., SOWERS, J.R. **Prenatal Programming and Epigenetics in the Genesis of the Cardiorenal Syndrome.** *Cardiorenal Med* 2011; 1: 243-254.

NOLAN, P.B., CARRICK-RANSON, G., STINEAR, J.W., READING, S.A., DALLECK, L.C. **Prevalence of metabolic syndrome and metabolic syndrome components in young adults: A pooled analysis.** *Prev Med Rep* 2017; 7: 211-215.

NV, L., WANG, X. SHEN, J., CAO, Y. ZHANG, Q. **MiR-574-3p inhibits glucose toxicity-induced pancreatic β -cell dysfunction by suppressing PRMT1.** *Diabetol Metab Syndr* 2022; 14: 99.

OHLSON, L.O., LARSSON, B., SVÄRDSUDD, K., WELIN, L., ERIKSSON, H., WILHELMSSEN, L., BJÖRNTORP, P., TIBBLIN, G. **The influence of body fat distribution on the incidence of diabetes mellitus. 13.5 years of follow-up of the participants in the study of men born in 1913.** *Diabetes* 1985; 34: 1055-1058.

OKURA, T., NAKATA, Y., YAMABUKI, K., TANAKA, K. **Regional body composition changes exhibit opposing effects on coronary heart disease risk factors.** *ArteriosclerThromb Vasc Biol* 2004; 24: 923-929.

ORTEGA, F. J., MERCADER, J. M., CATALÁN, V., MORENO-NAVARRETE, J. M., PUEYO, N., SABATER, M., GÓMEZ-AMBROSI, J., ANGLADA, R., FERNÁNDEZ-FORMOSO, J. A., RICART, W., FRÜHBECK, G., FERNÁNDEZ-REAL, J. M. **Targeting the Circulating MicroRNA Signature of Obesity.** *Clinical Chemistry* 2013; 59:781-792.

PAJUNEN, P., VARTIAINEN, E., MÄNNISTÖ, S., JOUSILAHTI, P., LAATIKAINEN, T., PELTONEN, M. **Intra-individual changes in body weight in population-based cohorts during four decades: the Finnish FINRISK study.** *Eur J Public Health* 2012; 22:107-112

PALMER, J.D., SOULE, B.P., SIMONE, B.A., ZAORSKY, N.G., JIN, L., SIMONE, N.L. **MicroRNA expression altered by diet: can food be medicinal?** *Ageing Res Rev* 2014; 17: 16-24.

PALMISANO, G., JENSEN, S.K., LE BIHAN, M.C., LAINÉ, J., MCGUIRE, J.N., POCIOT, F., LARSEN, M.R. **Characterization of membrane-shed microvesicles from cytokine-stimulated b-cells using proteomics strategies.** *Mol Cell Proteomics* 2012; 11, 230-243.

PÁRRIZAS, M., NOVIALS, A. **Circulating microRNAs as biomarkers for metabolic disease.** Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2016; 30: 591-601.

PENG, Y., YU, S., LI, H., XIANG, H., PENG, J., JIANG, S. **MicroRNAs: emerging roles in adipogenesis and obesity.** Cell Signal 2014; 26: 1888-1896.

PÉREZ-MARTÍNEZ, P., MIKHAILIDIS, D.P., ATHYROS, V.G., BULLO, M., COUTURE, P., COVAS, M.I., KONING, L., DELGADO-LISTA, J., DÍAZ-LÓPEZ, A., DREYON, C.A., ESTRUCH, R., ESPOSITO, C., FTÓ, M., GARAULET, M., GIUGLIANO, D., GARCIA-RIOS, A., KATSIKI, N., KOLOVOU, G., LAMARCHE, B., MAIORINO, M.I., MENA-SÁNCHEZ, G., MUNÓZ-GARACH, A., NIKOLIC, D., ORDOVÁS, J.M., PÉREZ-JIMÉNEZ, F., RIZZO, M., SALAS-SALVADÓ, J., SCHRÖDER, H., TINAHONES, F.J., TORRE, R., VAN OMMEN, B., WOPEREIS, S., ROS, E., LÓPEZ-MIRANDA, J. **Lifestyle recommendations for the prevention and management of metabolic syndrome: An international panel recommendation.** Nutr Rev 2017; 75: 307-326.

PICARD, F., AUWERX, J. **PPAR (gamma) and glucose homeostasis.** Annu Rev Nutr 2002; 22: 167-197.

PICARD, F., KURTEV, M., CHUNG, N., TOPARK-NGARM, A., SENAWONG, T., DE OLIVEIRA, R.M., LEID, M., MCBURNEY, M.W., GUARENTE, L. **Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR γ .** Nature 2004; 429: 771-776.

PINZO'N, J.B., SERRANO, N.C., DÍAZ, L.A., MANTILLA, G., VELASCO, H.M., MARTÍNEZ, L.X., MILLÁN, P.A., ACEVEDO, S.M., MORENO, D. **Impact of the new definitions in the prevalence of the metabolic syndrome in an adult population at Bucaramanga, Colombia.** Biomédica 2007; 27:172-179.

PORTER, K.E., TURNER, N.A. **Cardiac fibroblasts: At the heart of myocardial remodeling.** Pharmacol Ther 2009; 123: 255-278.

RAITAKARI, M., ILVONEN, T., AHOTUPA, M., LEHTIMÄKI, T., HARMOINEN, A., SUOMINEN, P., ELO, J., HARTIALA, J., RAITAKARI, O.T. **Weight reduction with very-low-caloric diet and endothelial function in overweight adults: role of plasma glucose.** Arterioscler Thromb Vasc Biol 2004; 24: 124-128.

RAMIRES, E.K.N.M., MENEZES, R.C.E., LONGO-SILVA, G., SANTOS, T.G., MARINHO, P.M., SILVEIRA, J.A.C. **Prevalência e Fatores Associados com a**

Síndrome Metabólica na População Adulta Brasileira: Pesquisa Nacional de Saúde -2013. Arq Bras Cardiol 2018; 110: 455-466.

RANA, M.N., NEELAND, I.J. **Adipose tissue inflammation and cardiovascular disease: an update.** Current Diabetes Reports 2022; 22: 27-37.

REAVEN, G.M. **Role of insulin resistance in human disease.** Diabetes 1988; 37: 1595-1607.

REILLY, S.M., SALTIEL, A.R. **Adapting to obesity with adipose tissue inflammation.** Nat Rev Endocrinol 2017; 13: 633-643.

REISIN, E., WEIR, M.R., FALKNER, B., HUTCHINSON, H.G., ANZALONE, D.A., TUCK, M.L. **Treatment in Obese Patients with Hypertension (TROPHY) Study Group. Lisinopril versus hydrochlorothiazide in obese hypertensive patients: a multicenter placebo-controlled trial.** Hypertension 1997; 30: 140-145.

REXRODE, K.M., CAREY, V.J., HENNEKENS, C.H., WALTERS, E.E., COLDITZ, G.A., STAMPFER, M.J., WILLETT, W.C., MANSON, J.E. **Abdominal Adiposity and Coronary Heart Disease in Women.** JAMA 1998; 280: 1843-1848.

RINK, C., KHANNA, S. **MicroRNA in ischemic stroke etiology and pathology.** Physiol Genomics 2010; 43: 521-528.

ROBINS, S.J., COLLINS, D., WITTES, J.T., PAPADEMETRIOU, V., DEEDWANIA, P.C., SCHAEFER, E.J., MCNAMARA, J.R., KASHYAP, M.L., HERSHMAN, J.M., WEXLER, L.F., RUBINS, H.B. **VA-HIT Study Group. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Intervention Trial. Relation of gemfibrozil treatment and lipid levels with major coronary events: VA-HIT: a randomized controlled trial.** JAMA 2001; 285: 1585-1591.

ROCKSTROH, D., LÖFFLER, D., KIESS, W., LANDGRAF, K., KÖRNER, A. **Regulation of human adipogenesis by miR125b-5p.** Adipocyte 2016; 5: 283-297.

RODRIGUEZ, A., GRIFFITHS-JONES, S., ASHURST, J.L., BRADLEY, A. **Identification of Mammalian microRNA Host Genes and Transcription Units.** Genome Res 2004; 14: 1902-1910.

ROJAS, B.L., WEIGELT, K., DE WIT, H., OZCAN, B., VAN OUDENAREN, A., SEMPÉRTEGUI, F., SIJBRANDS, E., GROSSE, L., VAN ZONNEVELD,

A.J., DREXHAGE, H.A., LEENEN, P.J.M. **Study on inflammation-related genes and microRNAs, with special emphasis on the vascular repair factor HGF and miR-574-3p, in monocytes and serum of patients with T2D.** Diabetol Metab Syndr 2016; 8: 6.

ROMAO, J.M., JIN, W., DODSON, M.V., HAUSMAN, G.J., MOORE, S.S., GUAN, L.L. **MicroRNA Regulation in Mammalian Adipogenesis.** Exp Biol Med 2011; 236: 997-1004.

ROME S. **Use of miRNAs in biofluids as biomarkers in dietary and lifestyle intervention studies.** Genes Nutr 2015; 10: 483.

ROMEO, G.R., LEE, J., SHOELSON, S.E. **Metabolic syndrome, insulin resistance, and roles of inflammation – mechanisms and therapeutic targets.** Arterioscler Thromb Vasc Biol 2012; 32: 1771-1776.

RUTKOWSKI, J.M., STERN, J.H., SCHERER, P.E. **The cell biology off at expansion.** J Cell Biol 2015; 208: 501-512.

SAARISTO, T.E., BARENGO, N.C., KORPI-HYÖVÄLTI, E., OKSA, H., PUOLIJOKI, H., SALTEVO, J.T., VANHALA, M., SUNDVALL, J., SAARIKOSKI, L., PELTONEN M., TUOMILEHTO J. **High prevalence of obesity, central obesity and abnormal glucose tolerance in the middle-aged Finnish population.** BMC Public Health 2008; 8: 423.

SAELY, C.H., GEIGER, K., DREXEL, H. **Brown versus white adipose tissue: amini-review.** Gerontology 2012; 58: 15-23.

SAKAGUCHI, M., ISONO, M., ISSHIKI, K., SUGIMOTO, T., KOYA, D., KASHIWAGI, A. **Inhibition of mTOR signaling with rapamycin attenuates renal hypertrophy in the early diabetic mice.** Biochem Biophys Res Commun 2006; 340: 296-301.

SALINAS, J., LIN, H., APARICO, H.J., HUAN, T., LIU, C., RONG, J., BEISER, A., HIMALI, J.J., FREEDMAN, J.E., LARSON, M.G., ROSAND, J., SOREQ, H., LEVY, D., SESHADRI, S. **Whole blood microRNA expression associated with stroke: Results from the Framingham Heart Study.** PLoS One 2019; 14: e0219261.

SAMUEL, V.T., SHULMAN, G.I. **Integrating mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links.** Cell 2012; 148: 852-871.

SANCHEZ-GURMACHES, J., HUNG, C.M., GUERTIN, D.A. **Emerging complexities in adipocyte origins and identity.** Trends Cell Biol 2016; 26: 313-326.

SARTIPY, P., LOSKUTOFF, D.J. **Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance.** Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100: 7265-7270.

SATTAR, N., GAW, A., SCHERBAKOVA, O., FORD, I., O'REILLY, D.S., HAFFNER, S.M., ISLES, C., MACFARLANE, P.W., PACKARD, C.J., COBBE, S.M., SHEPHERD, J. **Metabolic syndrome with and without C-reactive protein as a predictor of coronary heart disease and diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study.** Circulation 2003; 108: 414-419.

SCHWARZ, D.S., HUTVAGNER, G., DU, T., XU, Z., ARONIN, N., ZAMORE, P.D. **Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex.** Cell 2003; 115: 199-208.

SELBACH, M., SCHWANHÄUSSER, B., THIERFELDER, N., FANG, Z., KHANIN, R., RAJEWSKY, N. **Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs.** Nature 2008; 455: 58-63.

SEQUEIRA LÓPEZ, M.L.S., PENTZ, E.S., NOMASA, T., SMITHIES, O., GOMEZ, R.A. **Renin cells are precursors for multiple cell types that switch to the renin phenotype when homeostasis is threatened.** Dev Cell 2004; 6: 719-728.

SEQUEIRA-LOPEZ, M.L.S., WEATHERFORD, E.T., BORGES, GR., MONTEAGUDO, M.C., PENTZ, E.S., HARFE, B.D., CARRETERO, O., SIGMUND, C.D., GOMEZ, R.A. **The MicroRNA-Processing Enzyme Dicer Maintains Juxtaglomerular Cells.** J Am Soc Nephrol 2010; 21: 460-467.

SHANKAR, A., XIAO, J. **Positive relationship between plasma leptin level and hypertension.** Hypertension 2010; 56: 623-628.

SEYHAN, A.A., NUNEZ LOPEZ, Y.O., XIE, H., YI, F., MATHEWS, C., PASARICA, M., PRATLEY, R.E. **Pancreas-enriched miRNAs are altered in the circulation of subjects with diabetes: a pilot cross-sectional study.** Sci Rep 2016; 6:31479.

SHI,X., CHEN,X. **Effect of microRNA-370 on Coronary Atherosclerosis and Its Underlying Mechanism.** Exp Ther Med 2019; 17: 115-122.

SIDOSSIS, L., KAJIMURA, S. **Brown and beige fat in humans: thermogenic adipocytes that control energy and glucose homeostasis.** J Clin Invest 2015; 125: 478-486.

SINGLA, P., BARDOLOI, A., PARKASH, A.A. **Metabolic effects of obesity: a review.** World J Diabetes 2010; 1: 76-88.

SINGLETON, K.D., WISCHMEYER, P.E. **Glutamine attenuates inflammation and NF-kappaB activation via Cullin-1 deneddylation.** Biochem Biophys Res Commun 2008; 373: 445-449.

SIOMI, H., SIOMI, M.C. **Posttranscriptional regulation of microRNA biogenesis in animals.** Mol Cell 2010; 38: 323-332.

SJÖSTRÖM, L. **Review of the key results from the Swedish Obese Subjects (SOS) trial – a prospective controlled intervention study of bariatric surgery.** J Intern Med 2013; 273: 219-234.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diretriz da Sociedade Brasileira de Diabetes - 2022. **Diagnóstico do diabetes e rastreamento do diabetes tipo 2.** Disponível em: <<https://diretriz.diabetes.org.br/diagnostico-e-rastreamento-do-diabetes-tipo-2/>>. Acesso em 06 jun 2022.

SONG, J., BAI, Z., HAN, W., ZHANG, J., MENG, H., BI, J., MA, X., HAN, S., ZHANG, Z. **Identification of suitable reference genes for qPCR analysis of serum microRNA in gastric cancer patients.** Dig Dis Sci 2012; 57: 897-904.

SOWERS, J.R., NYBY, M., STERN, N., BECK, F., BARON, S., CATANIA, R., VLACHIS, N. **Blood pressure and hormone changes associated with weight reduction in the obese.** Hypertension 1982; 4: 686-691.

SMITH, C.J., RYCKMAN, K.K. **Epigenetic and developmental influences on the risk of obesity, diabetes, and metabolic syndrome.** Diabetes Metab Syndr Obes 2015; 8: 295-302.

SPERETTA, G.F., LEITE, R.D., DUARTE, A.C.O. **Obesidade, inflamação e exercício: foco sobre o TNF-alfa e IL-10.** HUPE 2014; 13: 61-69.

SPOSITO, A.C., CARAMELLI, B., FONSECA, F.A., BERTOLAMI, M.C. **IV Diretriz brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia.** Arquivos Brasileiros de Cardiologia 2007; 88, 2-19.

STERN, M.P. **The insulin resistance syndrome: the controversy is dead, long live the controversy!** Diabetologia 1994; 37: 956-958.

STRYCHARZ, J., WRÓBLEWSKI, A., ZIELENIK, A., SWIDERSKA E., MATYJAS, T., RUCÍŃSKA, M., POMORSKI, L., CZARNY, P., SZEMRAJ, J., DRZEWSKI, J., SLIWÍŃSKA, A. **Visceral Adipose Tissue of Prediabetic and Diabetic Females Shares a Set of Similarly Upregulated microRNAs Functionally Annotated to Inflammation, Oxidative Stress and Insulin Signaling.** Antioxidants 2021; 10, 101.

SU, X., KONG, Y., PENG, D.Q. **New insights into apolipoprotein A5 in controlling lipoprotein metabolism in obesity and the metabolic syndrome patients.** Lipids Health Dis 2018; 17:174.

SU, X., PENG, D. **The Exchangeable Apolipoproteins in Lipid Metabolism and Obesity.** Clin Chim Acta; 2020, 503: 128-135.

SU, Y., NI, Z., WANG, G., CUI, J., WEI, C., WANG, J., YANG, Q., XU, Y., LI, F. **Aberrant expression of microRNAs in gastric cancer and biological significance of miR-574-3p.** Int Immunopharmacol 2012; 13: 468-475.

SUGERMAN, H., WINDSOR, A., BESSOS, M., WOLFE, L. **Intra-abdominal pressure, sagittal abdominal diameter and obesity comorbidity.** J Intern Med. 1997; 241:71-79.

SUN, Q., VAN DAM, R.M., SPIEGELMAN, D., HEYMSFIELD, S.B., WILLETT, W.C., HU, F.B. **Comparison of dual-energy x-ray absorption metric and anthropometric measures of adiposity in relation to adiposity-related biologic factors.** Am J Epidemiol 2010; 172: 1442-1454.

SUN, Y.M., LIN, K.Y., CHEN, Y.Q. **Diverse functions of miR-125 family in different cell contexts.** J Hematol Oncol 2013; 6: 6.

TALLAM, L.S., DA SILVA, A.A, HALL, J.E. **Melanocortin-4 receptor mediates chronic cardiovascular and metabolic actions of leptin.** Hypertension 2006; 48: 58-64.

TASSANO, E., ACQUILA, M., TAVELLA, E., MICALIZZI, C., PANARELLO, C., MORERIO, C. **MicroRNA-125b-1 and BLID upregulation resulting from a novel IGH translocation in childhood B-Cell precursor acute lymphoblastic leukemia.** *Genes Chromosomes Cancer* 2010, 49: 682-687.

TATARANO, S., CHIYOMARU, T., KAWAKAMI, K., ENOKIDA, H., YOSHINO, H., HIDAKA, H., NOHATA, N., YAMASAKI, T., GOTANDA, T., TACHIWADA, T., SEKI, N., NAKAGAWA, M. **Novel oncogenic function of mesoderm development candidate 1 and its regulation by MiR-574-3p in bladder cancer cell lines.** *Int J Oncol* 2012; 40: 951-959.

TCHERNOF, A., DESPRÉS, J-P. **Pathophysiology of human visceral obesity: an update.** *Physiol Rev* 2013; 93: 359-404.

TESSITORE, A., CICCARELLI, G., DEL VECCHIO, F., GAGGIANO, A., VERZELLA, D., FISCHIETTI, M., MASTROIACO, V., VESTUSCHI, A., SFERRA, R., BARNABEI, R., CAPECE, D., ZAZZERONI, F., ALESSE, E. **MicroRNA expression analysis in high fat diet-induced NAFLD-NASH-HCC progression: study on C57BL/6J mice.** *BMC Cancer* 2016; 16: 3.

TIAN, D., SHA, Y., LU, J.M., DU, X.J. **MiR-370 inhibits vascular inflammation and oxidative stress triggered by oxidized low-density lipoprotein through targeting TLR4.** *J Cell Biochem* 2018; 119: 6231-6237.

TIEDT, S., PRESTEL, M., MALIK, R., SCHIEFERDECKER, N., DUERING, M., KAUTZKY, V., STOYCHEVA, I., JULIA, BÖCK., NORTHOFF, B.H., KLEIN, M., DORN, F., KROHN, K., TEUPSER, D., LIESZ, A., PLESNILA, N., HOLDT, L.M., DICHGANS, M. **RNA-Seq Identifies Circulating miR-125a-5p, miR-125b-5p, and miR-143-3p as Potential Biomarkers for Acute Ischemic Stroke.** *Circ Res* 2017; 121: 970-980.

TILG, H., MOSCHEN, A.R. **Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity.** *Nat Rev Immunol* 2006; 6: 772-783.

TORRIANI, M., SRINIVASA, S., FITCH, K.V., THOMOU, T., WONG, K., PETROW E.C., KAHN, C.R., CYPESS, A.M., GRINSPOON, S.K. **Dysfunctional subcutaneous fat with reduced dicer and brown adipose tissue gene expression in HIV-infected patients.** *J Clin Endocrinol Metab* 2016; 101: 1225-1234.

TROISI, R.J., WEISS, S.T., PARKER, D.R., SPARROW, D., YOUNG, J.B., LANDSBERG, L. **Relation of obesity and diet to sympathetic nervous system activity.** Hypertension 1991; 17: 669-677.

TSUCHIYA, K., OGAWA, Y. **Forkhead box class O family member proteins: The biology and pathophysiological roles in diabetes.** J Diabetes Investig 2017; 8: 726-734.

VANAVANAN, S., SRISAWASDI, P., ROCHANAWUTANON, M., KUMPROA, N., KRUTHKUL, K., KROLL, M.H. **Performance of body mass index and percentage of body fat in predicting cardiometabolic risk factors in Thai adults.** Diabetes Metab Syndr Obes 2018; 11: 241-253.

VANHIE, A., O, D., PETERSE, D., BECKERS, A., CUÉLLAR, A., FASSBENDER, A., MEULEMAN, C., MESTDAGH, P., D'HOOGHE, T. **Plasma miRNAs as biomarkers for endometriosis.** Hum Reprod 2019; 34: 1650-1660.

VILLARD, A., MARCHAND, L., THIVOLET, C., ROME, S. **Diagnostic value of cell-free circulating micrornas for obesity and type 2 diabetes: a meta-analysis.** J Mol Biomark Diagn 2015; 6: 251.

VIRTANEN, K.A., LIDELL, M.E., ORAVA, J., HEGLIND, M., WESTERGREN, R., NIEMI, T., TAITTONEN, M., LAINE, J., SAVISTO, N.J., ENERBÄCK, S., NUUTILA, P. **Functional brown adipose tissue in healthy adults.** N Engl J Med 2009; 360: 1518-1525.

XAVIER, H.T., IZAR, M.C., FARIA NETO, J.R., ASSAD, M.H., ROCHA, V.Z., SPOSITO, A.C., FONSECA, F.A., DOS SANTOS, J.E., SANTOS, R.D., BERTOLAMI, M.C., FALUDI, A.A., MARTINEZ, T.L.R., DIAMENT, J., GUIMARÃES, A., FORTI, N.A., MORIGUCHI, E., CHAGAS, A.C.P., COELHO, O.R., RAMIRES, J.A.F. **V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose.** Arq Bras Cardiol 2013; 101: 1-22.

XIE, H., LIM, B., LODISH, H.F. **Micrornas induced during adipogenesis that accelerate fat cell development are downregulated in obesity.** Diabetes 2009; 58, 1050-1057.

XU, H., LIU, X., ZHOU, J., CHEN, X., ZHAO, J. **miR-574-3p acts as a tumor promoter in osteosarcoma by targeting SMAD4 signaling pathway.** Oncol Lett 2016; 12: 5247-5253.

XU, P., VERNOOY, S.Y., GUO, M., HAY, B.A. **The drosophila microRNA Mir-14 suppresses cell death and is required for normal fat metabolism.** Curr Biol 2003; 13: 790-795.

WANG, L., ZHU, M.J., REN, A.M., WU, H.F., HAN, W.M., TAN, R.Y., TU, R.Q. **A Ten-MicroRNA Signature Identified from a Genome-Wide MicroRNA Expression Profiling in Human Epithelial Ovarian Cancer.** PLoS One 2014; 9: e96472.

WANG, S., WU, L., DU, L., LU, H., CHEN, B., BAI, Y. **Reduction in miRNA-125b-5p levels is associated with obstructive renal injury.** Biomed Rep 2017; 6: 449-454.

WANG, Q., LI, Y.C., WANG, J., KONG, J., QI, Y., QUIGG, R.J., LI, X. **miR-17-92 cluster accelerates adipocyte differentiation by negatively regulating tumor-suppressor Rb2/p130.** Proc Natl Acad Sci USA 2008; 105: 2889-2894.

WANG, X., ZHANG, X., YUAN, J., WU, J., DENG, X., PENG, J., WANG, S., YANG, C., GE, J., ZOU, Y. **Evaluation of the performance of serum miRNAs as normalizers in microRNA studies focused on cardiovascular disease.** J Thorac Dis 2018; 10: 2599-2607.

WANG, X., ZHENG, Y., MA, Y., DU, L., CHU, F., GU, H., DAHLGREN R. A., Li, Y., WANG H. **Lipid metabolism disorder induced by up-regulation of miR-125b and miR-144 following β -diketone antibiotic exposure to F0-zebrafish (*Danio rerio*).** Ecotoxicol Environ Saf 2018; 164: 243-252.

WANG, X., ZHU, H., SNIEDER, H., SU, S., MUNN, D., HARSHFIELD, G., MARIA, B.L., DONG, Y., TREIBER, F., GUTIN, B., SHI, H. **Obesity related methylation changes in DNA of peripheral blood leukocytes.** BMC Med 2010; 8: 87.

WANG, Y., MA, D.L., YU, C.H., SHA K.F., ZHAO M.J., LIU, T.J. **MicroRNA-370 Suppresses SOX12 Transcription and Acts as a Tumor Suppressor in Bladder Cancer.** Eur Rev Med Pharmacol Sci 2020; 24: 2303-2312.

WANG, Z., LU, Y., ZHANG, X., REN, X., WANG, Y., LI, Z., XU, C., HAN, J. **Serum microRNA is a promising biomarker for osteogenesis imperfecta.** Intractable Rare Dis Res 2012; 1: 81-85.

WILSON, P.W., D'AGOSTINO, R.B., PARISE, H., SULLIVAN, L., MEIGS, J.B. **Metabolic syndrome as a precursor of cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus.** Circulation 2005; 112: 3066-3072.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Part 1, Diagnosis and classification of diabetes mellitus.**1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Obesity and overweight, 2021.** Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>Acesso em: 02 mai. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Obesity.** Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/obesity#tab=tab_1 >. Acesso em: 02mai. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Obesity: preventing and managing the global epidemic: Report of a WHO consultation.** 2000; 1-268.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Obesity: Preventing and managing the global epidemic: Report of a WHO consultation on obesity.**1998;1-178.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO).**Waist Circumference and waist-hip ratio: report of a WHO expert consultation.** Geneva: 2008; 8-11.

WU, C.J., ZHAO, S.P., YU, B.L. **Intracellular role of exchangeable apolipoproteins in energy homeostasis, obesity and non-alcoholic fatty liver disease.** Biol Rev Camb Philos Soc 2015; 90: 367-376.

WU, J., COHEN, P., SPIEGELMAN, B.M. **Adaptative thermogenesis in adipocytes: is beige the new brown?** Genes Dev 2013; 27: 234-250.

WU, J., SUBBAIAH, K.C.V., JIANG, F., HADAYA, O., MOHAN, A., YANG, T., WELLE, K., GHAEMMAGHAMI, S., TANG, W.H.W., SMALL, E., YAN, C., YAO, P. **MicroRNA-574 Regulates FAM210A Expression and Influences Pathological Cardiac Remodeling.** BioRxiv 2020.

WU, S., HUANG, S., DING, J., ZHAO, Y., LIANG, L., LIU, T., ZHAN, R., HE, X. **Multiple microRNAs modulate p21Cip1/Waf1 expression by directly targeting its 3' untranslated region.** Oncogene 2010; 29: 2302-2308.

YANG, D.G., LIU, L., ZHOU, S.H. **MicroRNA alterations in senescent endothelial progenitor cells induced by remnant-like lipoproteins.** Chin Med J 2012; 125: 3479-3484.

YAO, P., WU, J., LINDNER, D., FOX, P.L. **Interplay between miR-574-3p and hnRNP L regulates VEGFA mRNA translation and tumorigenesis.** Nucleic Acids Res 2017; 45: 7950-7964.

YI, R., QIN, Y., MACARA, I.G., CULLEN, B.R. **Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs.** Genes Dev 2003; 17: 3011-3016.

YUAN, H., GAO, J. **The role of miR370 in fibrosis after myocardial infarction.** Mol Med Rep 2017;15: 3041-3047.

ZAIOU A., EL AMRI, H., BAKILLAH, A. **The clinical potential of adipogenesis and obesity-related microRNAs.** Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases 2018; 28: 91-111.

ZHANG, L., ZHANG, Y., XUE, S., DING, H., WANG, Y., QI, H., WANG, Y., ZHU, W., LI, P. **Clinical significance of circulating microRNAs as diagnostic biomarkers for coronary artery disease.** J Cell Mol Med 2020; 24: 1146-1150.

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 1994; 372: 425-432.

ZHANG, Y., SHI, L., MEI, H., ZHANG, J., ZHU, Y., HAN, X., ZHU, D. **Inflamed macrophage microvesicles induce insulin resistance in human adipocytes.** Nutr Metab 2015; 12, 21.

ZHANG, X., ZUO, X., YANG, B., LI, Z., XUE, Y., ZHOU, Y., HUANG, J., ZHAO, X., ZHOU, J., YAN, Y., ZHANG, H., GUO, P., SUN, H., GUO, L., ZHANG, Y., FU, X.D. **MicroRNA directly enhances mitochondrial translation during muscle differentiation.** Cell 2014; 158: 607-619.

ZHAO, Y., SONG, Y., YAO, L., SONG, G., TENG, C. **Circulating microRNAs: promising biomarkers involved in several cancers and other diseases.** DNA Cell Biol 2017; 36:77-94.

ZHAO, X., TANG, Y., QU, B., CUI, H., WANG, S., WANG, L., LUO, X., HUANG, X., LI, J., CHEN, S., SHEN, N. **MicroRNA-125a contributes to elevated inflammatory chemokine RANTES levels via targeting KLF13 in systemic lupus erythematosus.** Arthritis Rheum 2010; 62: 3425-3435.

ZHOU, J., SHAO, G., CHEN, X., YANG, X., HUANG, X., PENG, P., BA, Y., ZHANG, L., JEHangIR, T., BU, S., LIU, N., LIAN, J. **miRNA 206 and miRNA 574-5p are highly expression in coronary artery disease.** Biosci Rep 2015; 36: e00295.

ZHU, S., WANG, Z., HESHKA, S., HEO, M., FAITH, M.S., HEYMSFIELD, S.B. **Waist circumference and obesity-associated risk factors among whites in the third National Health and Nutrition Examination Survey: clinical action thresholds.** Am J Clin Nutr 2002; 76:743-749.

ZHU, J., ZHU, F., SONG, W., ZHANG, B., ZHANG, X., JIN, X., LI, H. **Altered miR-370 expression in hepatic ischemia-reperfusion injury correlates with the level of nuclear kappa B (NF-kappaB) related factors.** Gene 2017; 607: 23-30.

ANEXOS

ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(De acordo com as normas da Resolução nº 466, do Conselho Nacional de Saúde de 12/12/2012)

Você está sendo convidado para participar da pesquisa **“OBESIDADE – UMA ABORDAGEM TRANSLACIONAL: Os microRNAs representam um novo paradigma na identificação precoce de complicações cardiometabólicas associadas ao excesso de peso?”** Você foi selecionado por ordem de chegada e sua participação não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição (Unigranrio). O objetivo deste estudo é determinar as correlações entre as variáveis antropométricas, pressóricas e metabólicas, com a expressão de microRNAs circulantes reguladores em amostra de soro em indivíduos de peso normal e obesos.

Sua participação nesta pesquisa consistirá em responder a um questionário sobre dados pessoais e de saúde geral, fornecer amostras de sangue, ser pesado e medido (altura e circunferência da cintura e do quadril). Os riscos relacionados à sua participação são mínimos. E os benefícios, tratam-se de um melhor conhecimento da sua saúde geral.

As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação. Os resultados de seus exames serão confidenciais, ou seja, somente o pesquisador terá acesso a suas informações e serão utilizados somente para o objetivo do presente estudo. Uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com o senhor (a), podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento com os pesquisadores responsáveis Patrícia Aguiar Cardoso de Oliveira pelo telefone 998472863 ou e-mail patricia.oliveira@unigranrio.edu.br, ou com Cláudia Maria Pereira pelo telefone 26727776 ou e-mail claudemarie_br@unigranrio.edu.br, ou com Rômulo Sperduto Dezone pelo telefone 26727776 ou e-mail rdezonne@gmail.com.

Pesquisador Responsável

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

O pesquisador me informou que o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da UNIGRANRIO, localizada na Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160 – CEP 25071-202 TELEFONE (21)2672-7733 – ENDEREÇO ELETRÔNICO: cep@unigranrio.com.br

Rio de Janeiro, ____ de _____ de 20__.

Sujeito da pesquisa

ANEXO B – MODELO DE FICHA DE ANAMNESE (COLETA DE DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS E CLÍNICOS)



PROJETO DE PESQUISA - FICHA DE ANAMNESE

Nome: _____ Data de Nascimento: ____/____/____

Endereço: _____

Telefone: _____ Estado civil: _____ Profissão: _____

Questionário sociodemográficos

Sua cor ou raça é: () 1 - Branca () 2 - Preta () 3 - Amarela () 4 - Parda () 5 - Indígena

Sua renda familiar é: () 1. Menor de 1 salário mínimo () 2. de 1 salário mínimo () 3. de 1 a 2 salários mínimos () 4. de 2 a 3 salários mínimos () 5. mais de 3 salários mínimos

Nível de escolaridade: Sabe ler e escrever? () Sim () Não

Qual é o curso mais elevado que cursou, no qual concluiu pelo menos uma série? _____

Questionário Médico

1. Nome do seu médico: _____ Telefone: _____

2. Data do último exame médico: _____

3- Você já foi hospitalizado? () sim () não () não sei

4- Em caso de resposta positiva, qual o motivo? _____

5- Você está sob cuidados médicos? () sim () não () não sei

6- Em caso de resposta positiva, qual o motivo? _____

7- Você tem ou já teve alguma das seguintes condições:

8- Doenças congênitas do coração? () sim () não () não sei

9- Doenças cardíacas (ex.: infarto, angina, derrame, pressão alta, pressão baixa?).

() sim () não () não sei

10- Respiração difícil quando deitado ou sem fazer esforço? () sim () não () não sei

11- Inchaço nos pés ou tornozelos? () sim () não () não sei

12- Dor, pressão ou mal estar no peito? () sim () não () não sei

13- Febre reumática? () sim () não () não sei

14-Endocardite bacteriana?(☐ sim (☐) não (☐) não sei

15-Sopro no coração? (☐ sim (☐) não (☐) não sei

16- Desmaios, convulsões ou epilepsia?(☐ sim (☐) não (☐) não sei

17- Dor de cabeça (2 ou mais vezes por semana)? (☐ sim (☐) não (☐) não sei

18- Tratamento nervoso? (☐ sim (☐) não (☐) não sei

19- Problemas pulmonares? (ex.: tuberculose, asma, enfisema, bronquite ?

(☐) sim (☐) não (☐) não sei

20- Hepatite, doenças hepáticas, icterícia? (☐ sim (☐) não (☐) não sei

21-Doenças sexualmente transmissíveis (ex.: sífilis, gonorreia, AIDS)?

(☐) sim (☐) não (☐) não sei

22-Artrite ou dores articulares?(☐ sim (☐) não (☐) não sei

23- Diabetes?(☐ sim (☐) não (☐) não sei

24- Demora na cicatrização dos ferimentos? (☐ sim (☐) não (☐) não sei

25- Você urina mais de seis vezes por dia?(☐ sim (☐) não (☐) não sei

26- Você sente sede a maior parte do tempo? (☐ sim (☐) não (☐) não sei

27- Problemas sanguíneos (ex.: anemia, fragilidade capilar, coagulação, sangramento, hemoptise, melena, hematêmese, hematúria, epistaxes)? (☐) sim (☐) não (☐) não sei

28- Úlceras ou outros problemas estomacais? (☐) sim (☐) não (☐) não sei

29- Reação alérgica a: anestésicos, antibióticos (ex.: penicilina, tetraciclina), sulfa, analgésicos, anti-inflamatórios tranquilizantes, outros (ex.: alimentos, iodo, poeira)? (☐) sim (☐) não (☐) não sei

30- Você já sofreu transfusão sanguínea? (☐) sim (☐) não (☐) não sei

31- Você está tomando algum medicamento (listar nas observações)? (☐) sim (☐) não (☐) não sei

32- Você teve um aumento ou diminuição acentuada do peso? (☐) sim (☐) não (☐) não sei

33- Você teve uma variação recente no apetite? (☐) sim (☐) não (☐) não sei

34- Você sofreu tratamento com raios x, rádio ou cobalto? (☐) sim (☐) não (☐) não sei

Somente para mulher

35- Você já passou pela menopausa? (☐) sim (☐) não (☐) não sei

36- Você está tomando algum hormônio? (☐) sim (☐) não (☐) não sei

Observações: _____

Assinatura

Data**Exame Físico**

Pressão Arterial

1ª medida: PAS _____ PAD _____

2ª medida: PAS _____ PAD _____

3ª medida: PAS _____ PAD _____

Peso: _____

Altura: _____

IMC: _____

() Eutrófico () Sobrepeso () Obeso I () Obeso II () Obeso III

Circunferência de Cintura: _____

Circunferência de Quadril: _____

Relação Cintura – Quadril: _____

ANEXO C – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA (CEP/UNIGRANRIO)

UNIVERSIDADE DO GRANDE RIO PROFESSOR JOSÉ DE SOUZA HERDY - UNIGRANRIO 
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP
DADOS DO PROJETO DE PESQUISA Título da Pesquisa: OBESIDADE e UMA ABORDAGEM TRANSLACIONAL: Os microRNAs representam um novo paradigma na identificação precoce de complicações cardiometabólicas associadas ao excesso de peso? Pesquisador: Virginia Genethu de Abreu Francischetti Área Temática: Versão: 1 CAAE: 61206315.1.0000.5283 Instituição Proponente: UNIVERSIDADE UNIGRANRIO Patrocinador Principal: Financiamento Próprio DADOS DO PARECER Número do Parecer: 1.359.083 Apresentação do Projeto: Projeto muito bem elaborado, de leitura extremamente clara, mostrando grande domínio sobre o tema relevante e atual que vem se tornando um grave problema da saúde pública, que nos últimos anos tem atingido níveis epidêmicos. Deve-se enfatizar ainda que a proposta é bastante inovadora em nosso meio, pois trata-se da aplicação dos modernos métodos da biologia molecular tendo como base um referencial teórico extremamente atualizado. Objetivo da Pesquisa: O objetivo básico deste projeto é estudar os possíveis mecanismos regulatórios exercidos por microRNAs (miRNAs) no processo inflamatório crônico e subclínico desenvolvidos em indivíduos classificados como portadores de sobrepeso e obesidade. Além disso pretende-se estudar as suas interações com outros biomarcadores associados a diversas co-morbidades como a Hipertensão arterial, diabetes mellitus tipo, doenças cardio-vasculares e câncer. indivíduos com peso normal/grupo controle (GC), portadores de sobrepeso (SP) e de obesidade (OB). Para tal o estudo será realizado em três grupos de indivíduos, de acordo com o Índice de Massa Corporal (Eutróficos, Sobrepeso e Obesos), com idades na faixa de 28 a 30 anos de idade.
Endereço: Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160 Bairro: 25 de Agosto UF: RJ Telefone: (21)2672-7733 Município: DUQUE DE CAXIAS Fax: (21)2672-7733 CEP: 25.071-202 E-mail: cep@unigranrio.com.br 
Página 01 de 03

UNIVERSIDADE DO GRANDE
RIO PROFESSOR JOSÉ DE
SOUZA HERDY - UNIGRANRIO



Continuação do Parecer: 1.393.002

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Uma vez que não será feito nenhum tipo de intervenção terapêutica nem nutricional, exceto o pequeno desconforto normal pela extração de uma pequena quantidade de sangue periférico, não existem algum tipo risco. Os benefícios são de grande importância para o desenvolvimento da pesquisa básica e possível aplicação (Medicina personalizada).

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Como mencionado antes, considero a proposta de suma importância, pela sua atualidade, inovação, seu alcance social, e sua contribuição para a formação de recursos humanos para a pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Projeto muito bem apresentado, coordenado por pesquisadora de grande experiência e de reconhecida qualificação científica, o que permite ter a certeza do sucesso no desenvolvimento do mesmo e o alcance das metas propostas.

Recomendações:

Nenhuma

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sou de parecer que esta proposta seja aprovada sem restrições.

Considerações Finais a critério do CEP:

Prezado (a) Pesquisador (a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da UNIGRANRIO atendendo o previsto na Resolução 466/12 do CNS/MS APROVOU o referido projeto na reunião ocorrida em 09 de dezembro de 2015. Caso o (a) pesquisador (a) altere a pesquisa é necessário que o projeto retorne ao Sistema Plataforma Brasil para uma futura avaliação e emissão de novo parecer. Lembramos que o (a) pesquisador (a) deverá encaminhar o relatório da pesquisa após a sua conclusão, como um compromisso junto a esta instituição e o Sistema Plataforma Brasil.

Cordialmente,

CEP/Unigranrio.

Endereço: Rua Prof. José de Souza Herdy, 1190

Bairro: 25 de Agosto

CEP: 25.071-202

UF: RJ

Município: DUAQUE DE CAXIAS

Telefone: (21)2672-7733

Fax: (21)2672-7733

E-mail: cep@unigranrio.com.br

Página 02 de 03

CEP/Unigranrio

UNIVERSIDADE DO GRANDE
RIO PROFESSOR JOSÉ DE
SOUZA HERDY - UNIGRANRIO



Continuação do Parecer: 1.359.083

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_631059.pdf	23/11/2015 15:38:05		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	23/11/2015 15:33:04	Virginia Genelhu de Abreu Francischetti	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	23/11/2015 15:26:01	Virginia Genelhu de Abreu Francischetti	Aceito
Outros	CEP_Termo_de_Confidencialidade.pdf	23/11/2015 15:11:48	Virginia Genelhu de Abreu Francischetti	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	23/11/2015 15:05:19	Virginia Genelhu de Abreu Francischetti	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao.pdf	23/11/2015 15:03:47	Virginia Genelhu de Abreu Francischetti	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	23/11/2015 14:59:12	Virginia Genelhu de Abreu Francischetti	Aceito
Brochura Pesquisa	6039050286853283.pdf	23/11/2015 14:53:37	Virginia Genelhu de Abreu Francischetti	Aceito
Folha de Rosto	CCF23112015_0001.pdf	23/11/2015 14:18:15	Virginia Genelhu de Abreu Francischetti	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

DUQUE DE CAXIAS, 09 de Dezembro de 2015

Assinado por:
Renato Cerqueira Zambrotti
(Coordenador)

Endereço: Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160

Bairro: 25 de Agosto

CEP: 25.071-202

UF: RJ

Município: DUQUE DE CAXIAS

Telefone: (21)2672-7733

Fax: (21)2672-7733

E-mail: cep@unigranrio.com.br

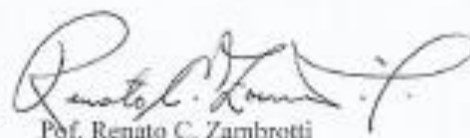
Duque de Caxias, 03 de dezembro de 2019

Do: Comitê de Ética em Pesquisa da UNIGRANRIO

Para: Prof. Dr. Virginia Genelhu de Abreu, Prof. Dr. Emilio Antônio Francischetti e Prof. Dr. Claudia Maria Pereira (Responsáveis pela Pesquisa)

O Comitê de Ética em Pesquisa da UNIGRANRIO, após avaliação ética do Protocolo de Pesquisa registrado na Plataforma Brasil sob o número CAAE 51206315.1.0000.5283, referente à pesquisa intitulada "OBESIDADE- UMA ABORDAGEM TRANSLACIONAL OS MIRNAS REPRESENTAM UM NOVO PARADIGMA NA IDENTIFICAÇÃO PRECOCE DE COMPLICAÇÕES CARDIOMETABÓLICAS ASSOCIADAS AO EXCESSO DE PESO?", concluiu pela sua **APROVAÇÃO** após análises e avaliações dos documentos inseridos na Plataforma Brasil apresentarem coerência de acordo com as diretrizes legais e normativas do Sistema CEP/CONEP, destacando-se a Resolução CNS nº 466/2012, a Norma Operacional CNS nº 001/2013, a Resolução CNS nº 510/2016 e outros documentos regulatórios referentes ao controle social das pesquisas envolvendo seres humanos.

O Comitê de Ética em Pesquisa da UNIGRANRIO reitera a orientação da CONEP de que o CEP deverá ser informado sobre quaisquer incidentes ocorridos no decorrer da pesquisa e que, ao término da mesma, conforme cronograma apresentado no projeto de pesquisa, seja encaminhado ao Comitê resumo descritivo sobre os resultados obtidos, a fim ser expedido o certificado de conclusão da pesquisa.



Prof. Renato C. Zambrotti

Coordenador do CEP-UNIGRANRIO



Danúbia de S. Rangel da Silva

Assistente Adm. CEP-UNIGRANRIO

ANEXO D – PUBLICAÇÃO DE MATERIAL CIENTÍFICO

Review

HMR/2020-04-0120/28.8.2020/MP5

Thieme

Insights into the Controversial Aspects of Adiponectin in Cardiometabolic Disorders

Authors

Emílio Antonio Francischetti¹, Rômulo Sperduto Dazome², Cláudia Maria Pereira², Cyro José de Moraes Martins¹, Bruno Miguel Jorge Colaria³, Patrícia Aguiar Cardoso de Oliveira², Virginia Genelhu de Abreu¹

Affiliations

- 1 Laboratory of Clinical and Experimental Pathophysiology, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro
- 2 Postgraduate Program in Translational Biomedicine, Grande Rio University, Duque de Caxias
- 3 Hospitals Copa Star & Copa D'Or – Rede D'Or São Luiz, Rio de Janeiro

Key words

obesity, insulin resistance, adiponectin resistance, adiponectin paradox, diabetes mellitus

received 22.04.2020

accepted 05.08.2020

Bibliography

Horm Metab Res 2020; 52: 1–13

DOI 10.1055/a-1239-4349

ISSN 0018-5043

© 2020. Thieme. All rights reserved.

Georg Thieme Verlag KG, Rüdigerstraße 14, 70469 Stuttgart, Germany

Correspondence

Emílio Antonio Francischetti
Laboratory of Clinical and Experimental Pathophysiology
Rio de Janeiro State University
Rio de Janeiro
Brazil
Tel.: +55 21 32982212, Fax: +55 21 22543800
eafancischetti@gmail.com

ABSTRACT

In 2016, the World Health Organization estimated that more than 1.9 billion adults were overweight or obese. This impressive number shows that weight excess is pandemic. Overweight and obesity are closely associated with a high risk of comorbidities, such as insulin resistance and its most important outcomes, including metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus, and cardiovascular disease. Adiponectin has emerged as a salutary adipocytokine, with insulin-sensitizing, anti-inflammatory, and cardiovascular protective properties. However, under metabolically unfavorable conditions, visceral adipose tissue-derived inflammatory cytokines might reduce the transcription of the adiponectin gene and consequently its circulating levels. Low circulating levels of adiponectin are negatively associated with various conditions, such as insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. In contrast, several recent clinical trials and meta-analyses have reported high circulating adiponectin levels positively associated with cardiovascular mortality and all-cause mortality. These results are biologically intriguing and counterintuitive, and came to be termed “the adiponectin paradox”. Adiponectin paradox is frequently associated with adiponectin resistance, a concept related with the downregulation of adiponectin receptors in insulin-resistant states. We review this contradiction between the apparent role of adiponectin as a health promoter and the recent evidence from Mendelian randomization studies indicating that circulating adiponectin levels are an unexpected predictor of increased morbidity and mortality rates in several clinical conditions. We also critically review the therapeutic perspective of synthetic peptide adiponectin receptors agonist that has been postulated as a promising alternative for the treatment of metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus.

Introduction

The Global Burden of Disease Study estimated that overweight adults, that is, with a body-mass index (BMI) of 25 kg/m² or higher, increased from 28.8% to 36.9% in men and from 29.8% to 38.0% in women between 1980 and 2013 worldwide [1]. In 2016, more than 1.9 billion adults aged 18 years and older were overweight. Of these, over 650 million were obese [2].

Overweight and obesity are closely associated with a high risk of comorbidities, such as insulin resistance and its most important outcomes, including type 2 diabetes mellitus (T2DM), metabolic syndrome, and cardiovascular diseases [3]. Among the causes of cardiovascular disease, chronic heart failure has been increasing continuously worldwide, mostly as a factor of the increase in life expectancy [4]. Together, these comorbidities increase the mortality rates in weight excess individuals [5].

■ Proof copy for correction only. All forms of publication, duplication or distribution prohibited under copyright law. ■

Francischetti EA et al. Adiponectin Resistance and Paradox. Horm Metab Res 2020; 52: 1–13 | © 2020. Thieme. All rights reserved.

1

eManuscript - Veroffentlichung (auch online). Verwendet für die Druckversion (auch online). Proof copy: publication (also online). Proof copy: publication (also online). — For redaction and further dissemination is not allowed. — For redaction and further dissemination is not allowed.