

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 26/02/2018.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA

Ingrid Felicidade

Análise de *pathway* e *network* em tecido adiposo *in vivo* e o papel da vitamina D na adipogênese *in vitro*

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Patologia.

Orientadora: Profa. Dra. Lúcia Regina Ribeiro
Coorientador: Prof. Dr. Mário Sérgio Mantovani
Coorientadora: Profa. Dra. Susan LM Coort

Botucatu
2016

Ingrid Felicidade

Análise de *pathway* e *network* em tecido adiposo *in vivo* e o papel da vitamina D na adipogênese *in vitro*

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Patologia.

Orientadora: Profa. Dra. Lúcia Regina Ribeiro
Coorientador: Prof. Dr. Mário Sérgio Mantovani
Coorientadora: Profa. Dra. Susan LM Coort

Botucatu
2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Felicidade, Ingrid.

Análise de pathway e network em tecido adiposo in vivo e o papel da vitamina D na adipogênese in vitro / Ingrid Felicidade. - Botucatu, 2016

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Lúcia Regina Ribeiro

Coorientador: Mário Sérgio Mantovani

Coorientador: Susan LM Coort

Capes: 40105008

1. Ciclo celular. 2. Envelhecimento. 3. Expressão gênica. 4. Obesidade. 5. Adipócitos. 6. Vitamina D.

Palavras-chave: Ciclo celular; SGBS; Senescência.

Ingrid Felicidade

Análise de *pathway* e *network* em tecido adiposo *in vivo* e o papel da vitamina D na adipogênese *in vitro*

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Patologia.

Orientadora: Profa. Dra. Lúcia Regina Ribeiro
Coorientador: Prof. Dr. Mário Sérgio Mantovani
Coorientadora: Profa. Dra. Susan LM Coort

Comissão Examinadora

Profa. Dra. Glenda Nicioli da Silva
Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP)

Prof. Dr. Daniel Araki Ribeiro
Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

Profa. Dra. Camila Renata Côrrea
Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB/UNESP)

Profa. Dra. Maria Inês de Moura Campos Pardini
Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB/UNESP)

Profa. Dra. Lúcia Regina Ribeiro
Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB/UNESP)

Botucatu, 26 de Fevereiro de 2016.

A Deus, meu Tudo
À Maria, minha Mãe e Rainha
Aos meus pais, minha base e fortaleza
Ao meu amado esposo, meu refúgio e norte

AGRADECIMENTOS

A Deus,

Meu Amado Senhor, obrigada por me guiar sob a sua proteção e por permitir que se realizassem os corretos planos para mim, e não, somente, os meus sonhos. Eu te louvo e agradeço pelo término de mais essa etapa.

Que o Senhor me ensine, cada dia mais, a amar como Ti e ter o dom da fé e da sabedoria para as vitórias e desafios vindouros.

“Eu creio nas promessas de Deus,

Eu creio nas promessas do meu Senhor.

Se sou fiel no pouco, Ele me confiará mais,

Se sou fiel no pouco, meus passos guiará.”

(Eugênio Jorge)

À Mãe, Rainha e Vencedora três vezes admirável de Schoenstatt,

“Nada sem Vós! Nada sem nós!”

Mãe, obrigada pelo auxílio espiritual, por me educar na fé, mas, principalmente, como pessoa.

Obrigada por permitir e me guiar dentro da escola do Pe. José Kentenich, nosso Pai e Fundador que cada dia mais me ensina e mostra um novo mundo.

Obrigada Mãe pelo colo e incondicional amor!

"Sem dificuldades, sem sacrifícios, sem luta, jamais chegaremos a ser algo grande.

Grandes homens crescem na cruz!"

(Pe. José Kentenich)

Aos meus pais, Antonio e Rosangela,

Somente tenho a agradecer pelo amor incondicional e apoio constante. Obrigada por me darem os bens mais preciosos, como caráter e educação. Com base em nossa família, sei que tudo posso e consigo, com esforço e humildade. Amo vocês! Obrigada por tudo!

Ao meu esposo Alisson,

Que sorte tenho eu por ter uma pessoa como você ao meu lado. Nessa matemática maluca onde $1+1=1$, e isso, incrivelmente, funciona muito bem conosco, eu não tenho palavras para descrever o quanto seu apoio e companheirismo tem me ajudado desde o nosso primeiro dia de namoro! Você tem acompanhado, graças a Deus, cada fase desde a graduação e sem seu

suporte, tudo teria sido muito mais difícil. Você é a personificação da palavra companheirismo. Obrigada pelo amor, carinho e amizade! Te amo para todo o sempre. *“Se os olhares se cruzarem e, neste momento, houver o mesmo brilho intenso entre eles, fique alerta: pode ser a pessoa que você está esperando desde o dia em que nasceu. Se o primeiro e o último pensamento do seu dia for essa pessoa, se a vontade de ficar juntos chegar a apertar o coração, agradeça: Deus te mandou um presente: O Amor.”* (Carlos Drummond de Andrade)

Aos meus familiares,

Agradeço por cada membro da minha família, assim como os da família de meu esposo, que agora também são meus, por terem vibrado comigo cada conquista e passo dado. Em especial, meu Tio Ronaldo, o qual eu vejo desde criança estudar sem fim para realizar o sonho de se tornar um docente, com toda certeza essa sementinha foi por ti, também, plantada. Amo todos vocês!

À minha orientadora, Profa. Dra. Lúcia Regina Ribeiro

Lúcia, muito obrigada por ter me aceito para continuar trabalhando com você durante todo o doutorado. Obrigada pela orientação, paciência e conhecimento passado nesses últimos 6 anos, foi muito gratificante. Obrigada por todas as oportunidades que você me ajudou a alcançar. Somente tenho a agradecer por tê-la como orientadora nesse momento de formação acadêmica e profissional. Mais uma vez, anseio que nossa parceria não se encerre por aqui e que possamos continuar a trabalhar juntas ao longo da minha carreira profissional. Minha mais sincera gratidão!

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Mário Sérgio Mantovani

Obrigada Mário por deixar as portas do seu laboratório, e do seu grupo de estudo, sempre abertas para mim. Suas discussões e conhecimento foram essenciais para que o trabalho fosse concretizado, em especial o cultivo celular. Obrigada por me co-orientar nesses últimos 6 anos e que nossa colaboração perdure por muito tempo. Muito obrigada Mário, a sua pessoa e experiência tornaram minha base ainda mais sólida.

À minha co-orientadora, Profa. Dra. Susan Coort

O mundo dá voltas, e por vezes nos traz ótimas surpresas. Obrigada por toda ajuda, comprometimento e atenção durante o meu estágio na Maastricht University. A sua dedicação

e paciência em me ensinar foram essenciais para que eu aprendesse e conseguisse aplicar esses conhecimentos no projeto e artigo desenvolvido durante o período que estive com vocês. Obrigada por me acolher e permitir que eu conhecesse sua família. Tenho certeza que ainda faremos muitas colaborações no futuro e sempre guardarei com carinho sua amizade e seus ensinamentos. Ainda tenho muito a aprender sobre bioinformática e tenho certeza que muito desse conhecimento será adquirido através de você. Muito obrigada!

Ao Prof. Dr. Chris Evelo,

Chris, obrigada pela confiança que deposita em mim há tantos anos e, por isso, ter aberto as portas do seu grupo de pesquisa, sem nenhuma cerimônia. Me sinto muito feliz e honrada por ter integrado, mesmo por pouco tempo, esse excelente grupo. Suas discussões, conversas e correções me ajudaram, e ainda ajudam, muito para a finalização dos trabalhos e definições de novos projetos. Tenho certeza que ainda mais poderá ser feito no futuro. Por hora, deixo meu muito obrigada.

Ao Grupo de pesquisa do Laboratório de Genética Toxicológica – UEL,

Meu desejo no mestrado era que nossa amizade perdurasse pelos próximos e próximos anos, e agora, com a certeza de que fui atendida, peço saúde para continuarmos vivendo sempre essa amizade. Em especial, Lilian, Gláucia, Andressa, Simone, Bruna, Thalita, Daniele Sartori, Eliane e Adrivânio, vocês fazem a diferença na minha vida! Obrigada pelos anos de amizade, pela paciência em discutir dados, ler e reler meus textos, pela disponibilidade de trabalhar dias e horas comigo, por serem meus dois braços enquanto eu não estava no Brasil. Eu sempre digo: com vocês os dias passam mais rápido! Espero que Deus abençoe o futuro de cada um e que nossos caminhos sempre se cruzem. E que esse grupo continue sendo maravilhoso e acolhendo todos que entram. Amo vocês!

Às MSc. Daniela Santos e Dra. Vanessa Peresi,

Sou muito grata por nossas vidas terem se cruzado e ter feito com que eu ganhasse duas amigas. Muito obrigada por todo o companheirismo, palavras de apoio, discussões e correções, vocês fazem parte das maravilhosas surpresas que a pós-graduação me proporcionou. Que Deus abençoe sempre o caminho de vocês e que mantenha nossas amizades. Embora distantes fisicamente, sei que a presença de vocês é constante.

Ao Grupo de pesquisa BiGCaT, Maastricht University

Agradeço pela oportunidade de ter integrado o grupo e pela disponibilidade de todos em me ensinar e ajudar no dia a dia. Vocês são um ótimo grupo e desejo todo o sucesso no futuro.

Agradeço especialmente ao Nuno, assim como a Vera, pela amizade dentro e fora do departamento, à Martina pela ajuda e dedicação, ao Lars por mais uma vez me ensinar e ajudar com a estatística, e, junto com o Egon, dividirem a sala comigo, deixando trabalho mais leve. Ao Johnathan, Fred, Linda, Ryan, Elisa, Anwasha, Myrtle e Mirella pela amizade e companhia. Foi um enorme prazer e uma experiência única conhecer um lugar lindo com pessoas ainda melhores. Sucesso e nos vemos por aí.

Ao Programa de Pós-graduação em Patologia (UNESP), nas pessoas da Dra. Márcia Guimarães da Silva e Dra. Denise Fecchio

À Dra. Márcia que nunca mediu esforços para me ajudar enquanto pessoa, e coordenadora do programa, e à Dra. Denise por zelar e aprimorar o programa cada dia mais, fazendo o possível na coordenação para que o programa e os alunos não parem de crescer. Muito obrigada pela oportunidade.

À Vânia do Amaral Soler – UNESP

Vânia, MUITO OBRIGADA pelo apoio nesses últimos anos. Feliz de nós, alunos e docentes do programa, que temos você sempre disposta a ajudar e atender. Obrigada por toda ajuda!

Você não faz ideia como a sua pessoa, o carinho dispensado no trabalho diário, foram essenciais na minha formação. Que Deus a guarde e abençoe sempre.

Muitíssimo obrigada!

Ao Dr. Carsten Carlberg,

Carsten obrigada pela oportunidade de trabalhar com você e seu grupo de pesquisa. Seus conhecimentos em vitamina D são ímpares, e eu me sinto lisonjeada de ter colaborado com você e ainda encontrar as portas abertas para sanar todas as minhas dúvidas. Obrigada.

À Sabine Seuter e Jussi Ryyänen,

Pela amizade e conhecimento. Sabine muito obrigada por sempre estar disposta a me ajudar e sempre será uma grata surpresa encontra-la em congressos. Jussi, obrigada por ter deixado a sua tese em segundo plano para me acompanhar e me ensinar o que sabia sobre o cultivo celular, sei que fez o seu melhor e o que estava ao seu alcance. Obrigada por tudo!

À MSc. Juliana Lara Padovani,

Muito obrigada por toda a sua ajuda. Em meio a problemas, sem o seu apoio, eu não sei como conseguiria resolver tudo a tempo. Que Deus guarde seu bondoso coração e espero contribuir no futuro toda a ajuda dispensada. **MUITO OBRIGADA!**

À Dra. Ana Lúcia dos Anjos Ferreira e Dra. Daisy Maria Fávero Salvadori,

Muito obrigada por terem aceito integrar minha banca de qualificação. Obrigada pela disponibilidade, atenção e cuidado na correção da minha tese. Suas recomendações foram de grandioso valor. Muito obrigada!

À Dra. Maria Inês de Moura Campos Pardini, Dr. Daniel Araki Ribeiro, Dra. Camila

Renata Côrrea e Dra. Glenda Nicioli da Silva,

Agradeço pela disponibilidade em dividir o conhecimento de vocês comigo, em especial nesse momento de amadurecimento profissional. Antecipadamente, agradeço os comentários, correções e observações em meu trabalho. Muito obrigada por terem aceitado integrar minha banca de defesa da tese.

Aos meus amigos,

Sem vocês a vida seria menos colorida e leve. Obrigada por todo o apoio, incentivo, preocupação, palavra, refúgio. Obrigada por sempre estarem presentes em minha vida, mesmo quando eu preciso me ausentar. Amo cada um de vocês! Obrigada pela orações e pensamentos positivos, eles me ajudaram e me ajudam muito.

Às agências financiadoras,

CAPES e CNPq pelo suporte financeiro para o desenvolvimento dessa tese.

*A todos aqueles que torceram, rezaram, ajudaram ou simplesmente fizeram-me companhia durante esses anos, meu **MUITO OBRIGADA!***

*“O Senhor fez a terra produzir os medicamentos: o homem sensato não os despreza.
O Altíssimo deu-lhes a ciência da medicina para ser honrado em suas maravilhas; e dela se
serve para acalmar as dores e curá-las.”*

Eclo 38, 4.6-7a

RESUMO

FELICIDADE, I. Análise de *pathway* e *network* em tecido adiposo *in vivo* e o papel da vitamina D na adipogênese *in vitro*. 2016. 174 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2016.

A prevalência de obesidade mais que dobrou entre 1980 e 2014, uma vez que mais de 1,9 bilhões de adultos são com sobrepeso, e mais de 600 milhões desses são obesos. No Brasil, de acordo com as últimas pesquisas, em 2014, 52,5% dos brasileiros são sobrepesos, enquanto 17,9% são obesos. Obesidade é o maior fator de risco para doenças não-transmissíveis, como doenças cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2, hipertensão e câncer. Indivíduos obesos metabolicamente saudáveis tendem a apresentar um quadro de obesidade hiperplásica, o que garante a integridade da função do tecido adiposo, e tem demonstrado ser a chave para a manutenção da homeostase corporal em casos de desequilíbrio no metabolismo energético, como na obesidade. A vitamina D, e seus metabólitos, são lipofílicos e, dessa forma, são armazenados no tecido adiposo, sendo esse evento a possível causa para baixos níveis séricos de VitD em indivíduos obesos. Por isso, o objetivo da presente tese foi realizar análises de *pathway* e *network* em tecido adiposo de indivíduos obesos, comparados com indivíduos eutróficos, e avaliar a ação da vitamina 1,25(OH)₂D₃ na adipogênese em modelo de tecido adiposo humano normal. No primeiro artigo, realizou-se normalização dos dados brutos de *microarray* para análises de *pathway* e integração desses em um *network*. Já no segundo artigo, foi realizada análise celular em tempo real (RTCA), ensaios de atividade metabólica e proliferação celular foram utilizados para mensurar os efeitos da VitD na proliferação e diferenciação adipogênica de células SGBS (síndrome de Simpson-Golabi-Behmel) tratadas com VitD 10nM e 100nM. Análises de apoptose e ciclo celular foram, ainda, realizadas, seguidas por quantificação de triglicerídeos e expressão gênica por RT-qPCR. Os resultados encontrados sustentam o papel central da via da adipogênese em indivíduos obesos, além de mostrar que essa via apresenta alterações na expressão gênica, quando comparada com dados de indivíduos não obesos, além da interação de vias da vitamina D com a via da adipogênese, em obesos. Posteriormente, foi demonstrado que a vitamina D possui ação em pré-adipócitos, em genes biomarcadores da adipogênese e no *VDR*, além de induzir parada de ciclo celular e diminuição de lipídios intracelulares. A partir dos resultados obtidos com o tratamento de pré-adipócitos humanos com vitamina D, sugere-se a senescência celular induzida por oncogenes, como um possível mecanismo para a ação da vitamina na parada de ciclo celular. Assim, os resultados abrem caminhos para mais investigações no que tange a ação da vitamina D na proliferação de tecido adiposo, além de servir de base para a compreensão da hiperplasia na manutenção da saúde em indivíduos obesos, e garantir os benefícios da suplementação da vitamina D em todas as populações.

Palavras-chave: Ciclo celular; Senescência; SGBS.

SUMÁRIO

Capítulo I – Revisão da literatura	15
1 REVISÃO DA LITERATURA	16
1.1 Obesidade	16
1.2 Adipogênese	17
1.2.1 Proliferação de pré-adipócitos	20
1.2.2 Diferenciação.....	20
1.3 Modelos para estudo em tecido adiposo	23
1.3.1 Modelos experimentais <i>in vitro</i>	24
1.3.1.1 Modelos em ratos	24
1.3.1.2 Modelos em humanos	25
1.3.1.2.1 Pré-adipócitos humanos SGBS (síndrome de Simpson-Golabi-Behmel)	26
1.4 Vitamina D	26
1.4.1 Vitamina D e obesidade.....	27
1.4.2 Papel da vitamina D na adipogênese	28
1.4.3 Efeito antiproliferativo da vitamina D.....	28
1.5 Senescência celular	29
1.5.1 Tipos de senescência celular.....	30
1.5.1.2 Senescência induzida por oncogenes	31
1.5.2 Senescência na obesidade.....	32
2 OBJETIVOS	33
2.1 Geral	33
2.2 Específicos	33
3 COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS	34
REFERÊNCIAS	35
Capítulo II – Artigo 1: The role of adipogenesis pathway in obese individuals: a pathway-based analysis in human subcutaneous adipose tissue	41
Abstract	44
INTRODUCTION	46
METHODS	47
<i>Transcriptomics dataset</i>	47
<i>Affymetrix microarray analysis</i>	48

<i>Pathways analysis</i>	49
<i>Gene ontology analysis</i>	49
<i>Network integrations</i>	50
RESULTS	50
<i>Study groups</i>	50
<i>Differential expression</i>	51
<i>Pathway analysis</i>	51
<i>Biological process</i>	52
<i>Network integration</i>	53
DISCUSSION	53
Acknowledgements	58
REFERENCES	58
FIGURE LEGENDS	61
FIGURES AND TABLE	65
SUPPLEMENTARY INFORMATION	70
List of references	70
Figures	71
Tables	84
Capítulo III – Artigo 2: Papel da vitamina D3 na adipogênese em células SGBS: novos achados na proliferação de pré-adipócitos	112
Resumo	114
INTRODUÇÃO	115
MATERIAIS E MÉTODOS	116
<i>Cultivo celular</i>	116
<i>Delineamento experimental</i>	117
<i>Análise celular em tempo real (RTCA) via sistema xCELLigence</i>	117
<i>Ensaio do MTT</i>	118
<i>Ensaio de azul de tripano</i>	118
<i>Análise de apoptose e ciclo celular</i>	119
<i>Análise colorimétrica e quantificação de lipídios</i>	120
<i>Expressão gênica em RT-qPCR</i>	120
<i>Análise estatística</i>	121
RESULTADOS	122
<i>Tratamento com VitD em células de pré-adipócitos humanos</i>	122

<i>Tratamento com VitD durante o estágio de diferenciação</i>	127
<i>Tratamento com VitD em adipócitos</i>	128
<i>Tratamento contínuo com VitD desde pré-adipócitos e a partir do estágio de diferenciação (T0h)</i>	130
<i>Diferenciação de células de pré-adipócitos humanos SGBS em adipócitos</i>	132
DISCUSSÃO	133
AGRADECIMENTOS	139
REFERÊNCIAS	139
INFORMAÇÃO SUPLEMENTAR	145
Dado suplementar S1	145
Tabela suplementar S1	149
Figuras	151
CONSIDERAÇÕES FINAIS	163
CONCLUSÃO	165
REFERÊNCIAS	166

Capítulo I

Revisão da Literatura

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Obesidade

Obesidade é o resultado do desequilíbrio entre ingestão e gasto energético (BILLION et al., 2008). Ainda, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (World Health Organization – WHO), obesidade é um excesso de gordura armazenada que pode resultar em um comprometimento da saúde e da homeostase. Comumente, obesidade é definida pelo índice de massa corporal (IMC) $\geq 30,0 \text{ Kg/m}^2$ enquanto sobrepeso é definido pelo IMC $\geq 25,0 \text{ Kg/m}^2$. A prevalência mundial de obesidade mais do que dobrou entre 1980 e 2014, uma vez que mais de 1,9 bilhões de adultos, com 18 anos ou mais, estavam com sobrepeso. Destes, mais de 600 milhões estavam com obesidade (WHO, 2015).

No Brasil, de acordo com a última pesquisa do VIGITEL (Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por Inquérito Telefônico) em 2014, 52,5% dos brasileiros apresentavam sobrepeso, enquanto 17,9% obesidade (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Além disso, dados do Sistema Único de Saúde (SUS), reportaram gastos de R\$ 488 milhões com obesidade, e comorbidades associadas, em 2008, período no qual 45% dos indivíduos apresentavam sobrepeso e 13,7% obesidade (SNA, 2014).

A obesidade é um dos principais fatores de risco para doenças crônicas não-transmissíveis, como doenças cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2 (T2DM), hipertensão e câncer (VIDAL-PUIG, 2013; ALLOTT & HURSTING, 2015; WHO, 2015). No Brasil, essas doenças crônicas não-transmissíveis causaram 72% das mortes em 2014 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). A resistência à insulina é a maior consequência da obesidade, seguida pela inflamação de baixo grau, no tecido adiposo, que rapidamente se tornam sistêmica e diminuem a sinalização da insulina enquanto aumentam a taxa de lipólise (GREGOR & HOTAMISLIGIL, 2011; LAFONTAN, 2014; RUTKOWSKI et al., 2015). Esse desequilíbrio é também aumentado pelo armazenamento ectópico de gordura com consequente promoção da lipotoxicidade e estresse oxidativo que conduzem à uma disfunção celular, de acordo com o tipo celular afetado, como doença hepática gordurosa não-alcoólica (NAFLD) e disfunção em células β -pancreáticas (VIDAL-PUIG, 2013; LAFONTAN, 2014).

Associada à resistência insulínica e obesidade, NAFLD e inflamação podem ser prevenidas pela expansão do tecido adiposo, pela proliferação de pré-adipócitos, relacionada com o aumento do metabolismo energético (RUTKOWSKI et al., 2015). Recentemente, tem

sido demonstrado que a resistência à insulina, em indivíduos metabolicamente não-saudáveis e lipodistróficos, é causada pela incapacidade de expansão do tecido adiposo (VIRTUE & VIDAL-PUIG, 2008). Embora a redução de tecido adiposo e da ação da insulina pareçam prevenir o ganho de peso adicional em pessoas obesas, com problemas para controle do apetite e de regularidade em exercícios físicos, estudos demonstram que a hipótese da expansão do tecido adiposo é capaz de manter a homeostase metabólica nesses indivíduos evitando, dessa forma, o ciclo vicioso causado pelo T2DM e a resistência à insulina em indivíduos obesos (VIRTUE & VIDAL-PUIG, 2008; VIDAL-PUIG, 2013; LAFONTAN, 2014).

Além disso, enquanto a energia excedente persiste e a capacidade de armazenamento do tecido adiposo é capaz de estocar continuamente o excesso de energia e lipídios, a homeostase metabólica e cardiovascular pode ser preservada, apesar da obesidade, sendo que o sequestro de ácidos graxos, na forma de triglicerídeos, pelos adipócitos, previne a lipotoxicidade (LAFONTAN, 2014).

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

1.2 Adipogênese

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

Há dois tipos de tecido adiposo, branco (WAT, *white adipose tissue*) e marrom (BAT, *brown adipose tissue*), diferindo em algumas características significativas. O tecido adiposo branco contém grandes vacúolos de lipídios individuais que compreendem a maioria do volume celular, enquanto o citoplasma e o núcleo são encontrados na periferia celular. Ainda, os pré-adipócitos, que possuem morfologia semelhante à de fibroblastos, podem ser cultivados *in vitro* e, posteriormente, induzidos a diferenciação para o estudo da adipogênese e de seus metabólitos. Já o tecido adiposo marrom, o qual é caracterizado por vacúolos de lipídios multiloculares e acentuada presença de mitocôndrias, são derivados a partir de distintos depósitos de tecido adiposo que são altamente vascularizados e inervados (BILLION et al., 2008; MORENO-NAVARRETE & FERNÁNDEZ-REAL, 2012).

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

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

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

CONCLUSÃO

Os resultados aqui apresentados corroboram com a literatura e demonstram em *pathways* e em um *network*, entre os *pathways* mais relevantes encontrados, a importância da adipogênese na obesidade, sendo, dessa forma, essa a principal via estudada no segundo artigo aqui apresentado.

No segundo capítulo, os resultados encontrados sustentam o papel central da via da adipogênese em indivíduos obesos, além de mostrar que essa via apresenta alterações na expressão gênica, quando comparada com dados de indivíduos não obesos. Além disso, foi demonstrado uma possível interação entre o metabolismo da vitamina D e a via da adipogênese, em indivíduos obesos.

Dessa forma, no terceiro capítulo, foi estudada a ação da vitamina D na proliferação e diferenciação de pré-adipócitos humanos, usando o modelo celular normal de pré-adipócitos humano SGBS. Foi demonstrado que a vitamina D possui ação em pré-adipócitos, além de induzir a parada celular. A partir dos resultados preliminares obtidos com o tratamento de pré-adipócitos humanos com vitamina D, discutiu-se um possível mecanismo para a ação da vitamina na parada celular. Embora a hipótese da senescência celular induzida pela vitamina D seja nova em tecido adiposo, muitos resultados semelhantes foram obtidos em outros tecidos, corroborando com esse mecanismo de ação pela vitamina.

Portanto, nossos estudos abrem caminhos para mais investigações no que tange a ação da vitamina D na proliferação de tecido adiposo, além de servir de base para a integração e importância da hiperplasia na manutenção da saúde em indivíduos obesos. Sendo a vitamina D lipossolúvel e seu uso indiscriminado na suplementação, indivíduos com elevado percentual de adiposidade podem atingir altas concentrações de vitamina D armazenada no tecido adiposo, podendo contribuir com o aumento da inflamação e resistência insulínica local, como consequência da parada do ciclo celular e diminuição do metabolismo mitocondrial.

Por fim, novos estudos que confirmem e delineiem os eventos propostos neste estudo são de extremo interesse na área médica a fim de garantir os benefícios da vitamina D em todas as populações.

REFERÊNCIAS

- Alberich-Jordà M, Wouters B, Balastik M, Shapiro-Koss C, Zhang H, Di Ruscio A, et al. C/EBP γ deregulation results in differentiation arrest in acute myeloid leukemia. *J Clin Invest*. 2012; 122(12):4490-4504.
- Ali AT, Hochfeld WE, Myburgh R, Pepper MS. Adipocyte and adipogenesis. *Eur J Cell Biol*. 2013; 92(6-7):229-236.
- Allott EH, Hursting SD. Obesity and cancer: mechanistic insights from transdisciplinary studies. *Endocr Relat Cancer*. 2015; 22(6):R365-386.
- Alvarez MS, Fernandez-Alvarez A, Cucarella C, Casado M. Stable SREBP 1a knockdown decreases the cell proliferation rate in human preadipocyte cells without inducing senescence. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 447(1): 51-6.
- Bao A, Li Y, Tong Y, Zheng H, Wu W, Wei C. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ and cisplatin synergistically induce apoptosis and cell cycle arrest in gastric cancer cells. *Int J Mol Med*. 2014; 33(5):1177-1184.
- Baranoski A, Tempesta Oliveira M, Semprebon SC, Niwa AM, Ribeiro LR, Mantovani MS. Effects of sulfated and non-sulfated β -glucan extracted from *Agaricus brasiliensis* in breast adenocarcinoma cells - MCF-7. *Toxicol Mech Methods* 2015; 13: 1-8.
- Bell NH, Epstein S, Greene A, Shary J, Oexmann MJ, Shaw S. Evidence for alteration of vitamin D-endocrine system in obese subjects. *J Clin Invest*. 1985; 76(1):370-373.
- Billon N, Monteiro MC, Dani C. Developmental origin of adipocytes: new insights into a pending question. *Biol Cell*. 2008; 100(10): 563-575.
- Blumberg JM, Tzamelis I, Astapova I, Lam FS, Flier JS, Hollenberg AN. Complex role of the vitamin D receptor and its ligand in adipogenesis in 3T3-L1 cells. *J Biol Chem*. 2006; 281(16):11205-11213.
- Campisi J, d'Adda di Fagagna F. Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8(9): 729-40.
- Carlberg C. Lipid soluble vitamins in gene regulation. *Biofactors*. 1999; 10(2-3):91-97.
- Carlberg C, Molnar F. Current Status of Vitamin D Signaling and Its Therapeutic Applications. *Curr Top Med Chem* 2012; 12(6): 528-47.
- Carlberg C, Seuter S, de Mello VD, Schwab U, Voutilainen S, Pulkki K, et al. Primary vitamin D target genes allow a categorization of possible benefits of vitamin D(3) supplementation. *PLoS One*. 2013;8(7):e71042.
- Carlberg C, Molnár F. Vitamin D receptor signaling and its therapeutic implications: Genome-wide and structural view. *Can J Physiol Pharmacol*. 2015; 93(5):311-318.

Chawla A, Nguyen KD, Goh YP. Macrophage-mediated inflammation in metabolic disease. *Nat Rev Immunol* 2011; 11(11): 738-49.

Clemente-Postigo M, Muñoz-Garach A, Serrano M, Garrido-Sánchez L, Bernal-López MR, Fernández-García D, Moreno-Santos I, Garriga N, Castellano-Castillo D, Camargo A, Fernández-Real JM, Cardona F, Tinahones FJ, Macías-González M Serum 25-Hydroxyvitamin D and Adipose Tissue Vitamin D Receptor Gene Expression: Relationship With Obesity and Type 2 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015; 100(4):E591-5.

Cornelius P, MacDougald OA, Lane MD. Regulation of adipocyte development. *Annu Rev Nutr.* 1994; 14:99-129.

Dahl RC. Establishment of an adipocyte cell-based model to investigate the effect of short-chain fatty acids, especially butyrate, on insulin sensitivity and glucose homeostasis in fat tissue. Thesis - Aarhus University, Faculty of Science and Technology, Department of Animal Science, Denmark, 2013.

Didriksen A, Burild A, Jakobsen J, Fuskevåg OM, Jorde R. Vitamin D₃ increases in abdominal subcutaneous fat tissue after supplementation with vitamin D₃. *Eur J Endocrinol.* 2015; 172(3):235-241.

Dobrian AD. A tale with a Twist: a developmental gene with potential relevance for metabolic dysfunction and inflammation in adipose tissue. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2012;3:108.

Drezner MK, Harrelson JM. Newer knowledge of vitamin D and its metabolites in health and disease. *Clin Orthop Relat Res* 1979; 139: 206-31.

Drincic AT, Armas LA, Van Diest EE, Heaney RP. Volumetric dilution, rather than sequestration best explains the low vitamin D status of obesity. *Obesity (Silver Spring).* 2012; 20(7):1444-1448.

Eijssen LM, Jaillard M, Adriaens ME, Gaj S, de Groot PJ, Muller M, et al. User-friendly solutions for microarray quality control and pre-processing on ArrayAnalysis.org. *Nucleic Acids Res.* 2013;41(Web Server issue):W71-6.

Felicidade I, Marcarini JC, Carreira CM, Amarante MK, Afman LA, Mantovani MS, et al. Changes in gene expression in PBMCs profiles of PPAR α target genes in obese and non-obese individuals during fasting. *Ann Nutr Metab* 2015; 66(1): 19-25.

Fève B. Adipogenesis: cellular and molecular aspects. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2005; 19(4): 483-99.

Fischer-Posovszky P, Newell FS, Wabitsch M, Tornqvist HE. Human SGBS cells - a unique tool for studies of human fat cell biology. *Obes Facts* 2008; 1(4):184-9.

Fleet JC, DeSmet M, Johnson R, Li Y. Vitamin D and cancer: a review of molecular mechanisms. *Biochem J.* 2012; 441(1):61-76.

- Goeman F, De Nicola F, D'Onorio De Meo P, Pallocca M, Elmi B, Castrignanò T, Pesole G, Strano S, Blandino G, Fanciulli M, Muti P. VDR primary targets by genome-wide transcriptional profiling. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014; 143:348-356.
- González-Pardo V, Soares A, Verstuyf A, De Clercq P, Boland R, de Boland AR. Cell cycle arrest and apoptosis induced by $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ and TX 527 in Kaposi sarcoma is VDR dependent. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014; 144 Pt A:197-200.
- Green H, Kehinde O. Spontaneous heritable changes leading to increased adipose conversion in 3T3 cells. *Cell.* 1976; 7:105-113.
- Green H, Meuth M. An established pre-adipose cell line and its differentiation in culture. *Cell.* 1974; 3:127-133.
- Gregoire FM, Smas CM, Sul HS. Understanding adipocyte differentiation. *Physiol Ver.* 1998; 78:783-809.
- Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol.* 2011; 29: 415-45.
- Gustafson B, Hedjazifar S, Gogg S, Hammarstedt A, Smith U. Insulin resistance and impaired adipogenesis. *Trends Endocrinol Metab.* 2015;26(4):193-200.
- Heaney RP, Recker RR, Grote J, Horst RL, Armas LA. Vitamin D(3) is more potent than vitamin D(2) in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(3):E447-52.
- Heinäniemi M, Uski JO, Degenhardt T, Carlberg C. Meta-analysis of primary target genes of peroxisome proliferator-activated receptors. *Genome Biol.* 2007; 8(7):R147.
- Holick MF. The vitamin D epidemic and its health consequences. *J Nutr.* 2005; 135(11):2739S-2748S.
- Huggins CJ, Malik R, Lee S, Salotti J, Thomas S, Martin N, et al. C/EBP γ Suppresses Senescence and Inflammatory Gene Expression by Heterodimerizing with C/EBP β . *Mol Cell Biol.* 2013; 33(16):3242-58.
- Itahana K, Campisi J, Dimri GP. Mechanisms of cellular senescence in human and mouse cells. *Biogerontology* 2004; 5(1):1-10.
- Kamei Y, Kawada T, Kazuki R, Ono T, Kato S, Sugimoto E. Vitamin D receptor gene expression is up-regulated by $1, 25$ -dihydroxyvitamin D $_3$ in 3T3-L1 preadipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 193(3): 948-55.
- Kelder T, Summer G, Caspers M, van Schothorst EM, Keijer J, Duivenvoorde L, et al. White adipose tissue reference network: a knowledge resource for exploring health-relevant relations. *Genes Nutr.* 2015;10(1):439.
- Keller P, Gburcik V, Petrovic N, Gallagher IJ, Nedergaard J, Cannon B, et al. Gene-chip studies of adipogenesis-regulated microRNAs in mouse primary adipocytes and human obesity. *BMC Endocr Disord.* 2011;11:7.

Kim YM, Shin HT, Seo YH, Byun HO, Yoon SH, Lee IK, et al. Sterol regulatory element-binding protein (SREBP)-1-mediated lipogenesis is involved in cell senescence. *J Biol Chem* 2010; 285(38): 29069-77.

Kong J, Li YC. Molecular mechanism of 1,25dihydroxyvitamin D₃ inhibition of adipogenesis in 3T3-L1 cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006; 290(5):E916-E924.

Kramer AH, Joos-Vandewalle J, Edkins AL, Frost CL, Prinsloo E. Real-time monitoring of 3T3-L1 preadipocyte differentiation using a commercially available electric cell-substrate impedance sensor system. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 443(4): 1245-50.

Kumar R, Pittelkow MR, Salisbury JL, Grande JP, Im HJ, Feldmann KA, et al. A Novel Vitamin D-Regulated Immediate-Early Gene, IEX-1, Alters Cellular Growth and Apoptosis. *Recent Results Cancer Res* 2003; 164: 123-34.

Kurylowicz A, Jonas M, Lisik W, Jonas M, Wicik ZA, Wierzbicki Z, et al. Obesity is associated with a decrease in expression but not with the hypermethylation of thermogenesis-related genes in adipose tissues. *J Transl Med*. 2015;13:31.

Kutmon M, Evelo CT, Coort SL. A network biology workflow to study transcriptomics data of the diabetic liver. *BMC Genomics*. 2014; 15:971.

Kutmon M, Evelo CT, Coort SL. A network biology workflow to study transcriptomics data of the diabetic liver. *BMC Genomics*. 2014;15:971.

Kutmon M, Riutta A, Nunes N, Hanspers K, Willighagen EL, Bohler A, et al. WikiPathways: capturing the full diversity of pathway knowledge. *Nucleic Acids Res*. 2015.

Kutmon M, van Iersel MP, Bohler A, Kelder T, Nunes N, Pico AR, et al. PathVisio 3: an extendable pathway analysis toolbox. *PLoS Comput Biol*. 2015;11(2):e1004085.

Lafontan M. Fat cells: afferent and efferent messages define new approaches to treat obesity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2005; 45:119-146.

Lafontan M. Adipose tissue and adipocyte dysregulation. *Diabetes Metab*. 2014; 40(1):16-28.

Lahnalampi M, Heinäniemi M, Sinkkonen L, Wabitsch M, Carlberg C. Time-resolved expression profiling of the nuclear receptor superfamily in human adipogenesis. *PLoS One* 2010; 5(9): e12991.

Landrier JF, Karkeni E, Marcotorchino J, Bonnet L, Tourniaire F. Vitamin D modulates adipose tissue biology: possible consequences for obesity? *Proc Nutr Soc*. 2016; 75(1):38-46.

Lee S, Lee DK, Choi E, Lee JW. Identification of a functional vitamin D response element in the murine *Insig-2* promoter and its potential role in the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *Mol Endocrinol*. 2005; 19(2):399-408.

Lee S, Shuman JD, Guszczynski T, Sakchaisri K, Sebastian T, Copeland TD, et al. RSK-Mediated Phosphorylation in the C/EBP β Leucine Zipper Regulates DNA Binding,

Dimerization, and Growth Arrest Activity. *Mol Cell Biol.* 2010; 30(11):2621-2635.

Li HX, Gao JM, Liang JQ, Xi JM, Fu M, Wu YJ. Vitamin D3 potentiates the growth inhibitory effects of metformin in DU145 human prostate cancer cells mediated by AMPK/mTOR signalling pathway. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2015; 42(6): 711-7.

Malmberg P, Karlsson T, Svensson H, Lönn M, Carlsson NG, Sandberg AS, Jennische E, Osmanovic A, Holmäng A. A new approach to measuring vitamin D in human adipose tissue using time-of-flight secondary ion mass spectrometry: a pilot study. *J Photochem Photobiol B.* 2014; 138:295–301.

Marcotorchino J, Tourniaire F, Landrier JF. Vitamin D, adipose tissue, and obesity. *Horm Mol Biol Clin Investig* 2013; 15(3): 123-8.

Mejhert N, Laurencikiene J, Pettersson AT, Kaaman M, Stenson BM, Ryden M, et al. Role of Receptor-Interacting Protein 140 in human fat cells. *BMC Endocr Disord.* 2010;10:1.

Mikkelsen TS, Xu Z, Zhang X, Wang L, Gimble JM, Lander ES, Rosen ED. Comparative epigenomic analysis of murine and human adipogenesis. *Cell.* 2010; 143: 156–169.

Ministério da Saúde. *Vigitel Brasil 2014: Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico* [Internet]. 2015; [português]. Disponível em: <http://www.portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/>.

Miranda M, Escote X, Alcaide MJ, Solano E, Ceperuelo-Mallafre V, Hernandez P, et al. Lpin1 in human visceral and subcutaneous adipose tissue: similar levels but different associations with lipogenic and lipolytic genes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2010;299(2):E308-17.

Mitterberger MC, Lechner S, Mattesich M, Zwerschke W. Adipogenic Differentiation Is Impaired in Replicative Senescent Human Subcutaneous Adipose-Derived Stromal/Progenitor Cells. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2014; 69(1): 13-24.

Moreno-Navarrete JM, Fernández-Real JM. *Adipose tissue biology: Adipocyte differentiation.* Springer New York 2012: 17-28.

Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983; 65 (1-2): 55-63.

Nakae J, Oki M, Cao Y. The FoxO transcription factors and metabolic regulation. *FEBS Lett.* 2008;582(1):54-67.

Narvaez CJ, Simmons KM, Brunton J, Salinero A, Chittur SV, Welsh JE. Induction of STEAP4 correlates with 1,25-dihydroxyvitamin D3 stimulation of adipogenesis in mesenchymal progenitor cells derived from human adipose tissue. *J Cell Physiol.* 2013; 228(10):2024-36.

Natarajan R. Vitamin D metabolites inhibit adipocyte differentiation in 3T3-L1 preadipocytes. 2008. 62f. Dissertação (Mestrado) - Graduate School of the University of Massachusetts Amherst, Estados Unidos da América, 2008.

Nautiyal J, Christian M, Parker MG. Distinct functions for RIP140 in development, inflammation, and metabolism. *Trends Endocrinol Metab.* 2013;24(9):451-9.

Nimitphong H, Holick MF, Fried SK, Lee MJ. 25-hydroxyvitamin D₃ and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ promote the differentiation of human subcutaneous preadipocytes. *PLoS One.* 2012; 7(12):e52171.

Ntambi JM, Kim YC. Adipocyte differentiation and gene expression. *J Nutr.* 2000; 130(12):3122S-3126S.

Pagano M. Cell cycle regulation by the ubiquitin pathway. *FASEB J.* 1997;11(13):1067-75.

Pawlikowski JS, Adams PD, Nelson DM. Senescence at a glance. *J Cell Sci* 2013; 126(Pt 18): 4061-7.

Pfaffl MW, Horgan GW, Dempfle L. Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Res* 2002; 30: e36.

Pickholtz I, Saadyan S, Keshet GI, Wang VS, Cohen R, Bouwman P, Jonkers J, Byers SW, Papa MZ, Yarden RI. Cooperation between BRCA1 and vitamin D is critical for histone acetylation of the p21waf1 promoter and growth inhibition of breast cancer cells and cancer stem-like cells. *Oncotarget.* 2014; 5(23):11827-11846.

Pourshahidi LK. Vitamin D and obesity: current perspectives and future directions. *Proc Nutr Soc.* 2015; 74(2):115-124.

Prokesch A, Hackl H, Hakim-Weber R, Bornstein SR, Trajanoski Z. Novel insights into adipogenesis from omics data. *Curr Med Chem.* 2009; 16(23):2952-2964.

Ravaud C, Esteve D, Villageois P, Bouloumie A, Dani C, Ladoux A. IER3 Promotes Expansion of Adipose Progenitor Cells in Response to Changes in Distinct Microenvironmental Effectors. *Stem Cells* 2015; 33(8): 2564-73.

Rosen ED, Hsu CH, Wang X, Sakai S, Freeman MW, Gonzalez FJ, Spiegelman BM. C/EBP α induces adipogenesis through PPAR γ : a unified pathway. *Genes Dev.* 2002; 16(1):22-26.

Rosen ED, Walkey CJ, Puigserver P, Spiegelman BM. Transcriptional regulation of adipogenesis. *Genes Dev.* 2000; 14(11):1293-1307.

Rutkowski JM, Stern JH, Scherer PE. The cell biology of fat expansion. *J Cell Biol.* 2015; 208(5):501-512.

Saretzki G. Cellular senescence in the development and treatment of cancer. *Curr Pharm Des.* 2010; 16(1):79-100.

Satyanarayana A, Klarmann KD, Gavrilova O, Keller JR. Ablation of the transcriptional regulator Id1 enhances energy expenditure, increases insulin sensitivity, and protects against age and diet induced insulin resistance, and hepatosteatosis. *FASEB J.* 2012;26(1):309-23.

Savio AL, da Silva GN, de Camargo EA, Salvadori DM. Cell cycle kinetics, apoptosis rates, DNA damage and TP53 gene expression in bladder cancer cells treated with allyl isothiocyanate (mustard essential oil). *Mutation research. Fundamental and molecular mechanisms of mutagenesis* 2014; 762: 40-46.

Schmidt SF, Jørgensen M, Chen Y, Nielsen R, Sandelin A, Mandrup S. Cross species comparison of C/EBPalpha and PPARgamma profiles in mouse and human adipocytes reveals interdependent retention of binding sites. *BMC Genomics*. 2011; 12:152.

Sebastian T, Johnson PF. Stop and Go: Anti-Proliferative and Mitogenic Functions of the Transcription Factor C/EBPβ. *Cell Cycle*. 2006; 5(9):953-957.

Siersbæk R, Nielsen R, Mandrup S. Transcriptional networks and chromatin remodeling controlling adipogenesis. *Trends Endocrinol Metab*. 2012; 23(2):56-64.

Sikora E, Arendt T, Bennett M, Narita M. Impact of cellular senescence signature on ageing research. *Ageing Res Rev*. 2011; 10(1):146-152.

SNA, Sistema Nacional de Auditoria. Doenças ligadas à obesidade custam R\$ 488 milhões. [Internet]. 2013; [atualizado em 19/03/2013; em português]. Disponível em: <http://sna.saude.gov.br/noticias.cfm?id=5013>.

Soccio RE, Tuteja G, Everett LJ, Li Z, Lazar MA, Kaestner KH. Species-specific strategies underlying conserved functions of metabolic transcription factors. *Mol. Endocrinol*. 2011; 25: 694–706.

Su G, Morris JH, Demchak B, Bader GD. Biological network exploration with cytoscape 3. *Curr Protoc Bioinformatics*. 2014;47:8 13 1-8 24.

Tchkonia T, Morbeck DE, Von Zglinicki T, Van Deursen J, Lustgarten J, Scrable H, Khosla S, Jensen MD, Kirkland JL. Fat tissue, aging, and cellular senescence. *Aging Cell*. 2010; 9(5):667-684.

Tomlinson JJ, Boudreau A, Wu D, Abdou Salem H, Carrigan A, Gagnon A, et al. Insulin sensitization of human preadipocytes through glucocorticoid hormone induction of forkhead transcription factors. *Mol Endocrinol*. 2010;24(1):104-13.

Trayhurn P. Hypoxia and adipocyte physiology: implications for adipose tissue dysfunction in obesity. *Annu Rev Nutr*. 2014;34:207-36.

Tsiaras WG, Weinstock MA. Factors influencing vitamin D status. *Acta Derm Venereol*. 2011; 91(2): 115-124.

Valdivielso JM, Fernandez E. Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clin Chim Acta*. 2006; 371(1-2):1-12.

van Dijk SJ, Feskens EJM, Bos MB, Hoelen DWM, Heijligenberg R, Bromhaar MG, de Groot LCPGM, de Vries JHM, Müller M, Afman LA. A saturated fatty acid-rich diet induces an obesity-linked proinflammatory gene expression profile in adipose tissue of subjects at risk

of metabolic syndrome. *Am J Clin Nutr.* 2009; 90(6):1656-1664.

Vidal-Puig A. Adipose tissue expandability, lipotoxicity and the metabolic syndrome. *Endocrinol Nutr.* 2013; 60 Suppl 1:39-43.

Vimaleswaran KS, Berry DJ, Lu C, Tikkanen E, Pilz S, Hiraki LT, et al. Causal relationship between obesity and vitamin D status: bi-directional Mendelian randomization analysis of multiple cohorts. *PLoS Med* 2013; 10(2): e1001383.

Virtue S, Vidal-Puig A. It's not how fat you are, it's what you do with it that counts. *PLoS Biol.* 2008; 6(9):e237.

Vos MD, Ellis CA, Elam C, Ulku AS, Taylor BJ, Clark GJ. RASSF2 is a novel K-Ras specific effector and potential tumor suppressor. *J Biol Chem.* 2003; 278(30):28045-51.

Wabitsch M, Bruderlein S, Melzner I, Braun M, Mechttersheimer G, Möller P. LiSa-2, a novel human liposarcoma cell line with a high capacity for terminal adipose differentiation. *Int J Cancer.* 2000; 88(6):889-94.

Wabitsch M, Brenner RE, Melzner I, Braun M, Möller P, Heinze E, et al.. Characterization of a human preadipocyte cell strain with high capacity for adipose differentiation. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001; 25(1): 8-15.

Walters MR. Newly identified actions of the vitamin D endocrine system. *Endocr Rev.* 1992; 13(4):719-764.

Wamberg L, Christiansen T, Paulsen SK, Fisker S, Rask P, Rejnmark L, Richelsen B, Pedersen SB. Expression of vitamin D-metabolizing enzymes in human adipose tissue -- the effect of obesity and diet-induced weight loss. *Int J Obes (Lond).* 2013; 37(5):651-657.

Whitfield GK, Hsieh JC, Jurutka PW, Selznick SH, Haussler CA, MacDonald PN, et al. Genomic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3. *J Nutr* 1995; 125(6):1690S-1694S.

WHO, Media Centre. Obesity and overweight [Internet]. WHO: Fact sheet N° 311; [atualizado em Janeiro 2015]. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.

Wood RJ. Vitamin D and adipogenesis: new molecular insights. *Nutr Rev.* 2008; 66(1):40-46.

Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr.* 2000; 72(3):690-693.

Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000; 72(3): 690-3.

Wu Z, Rosen ED, Brun R, Hauser S, Adelmant G, Troy AE, McKeon C, Darlington GJ, Spiegelman BM. Cross-regulation of C/EBP alpha and PPAR gamma controls the transcriptional pathway of adipogenesis and insulin sensitivity. *Mol Cell.* 1999; 3(2):151-158.

Xuan X, Li Q, Zhang Z, Du Y, Liu P. Increased expression levels of S100A4 associated with hypoxia-induced invasion and metastasis in esophageal squamous cell cancer. *Tumour Biol.* 2014;35(12):12535-43.

Zambon AC, Gaj S, Ho I, Hanspers K, Vranizan K, Evelo CT, et al. GO-Elite: a flexible solution for pathway and ontology over-representation. *Bioinformatics.* 2012;28(16):2209-10.

Zamboni M, Rossi AP, Fantin F, Zamboni G, Chirumbolo S, Zoico E, Mazzali G. Adipose tissue, diet and aging. *Mech Ageing Dev* 2014; 136-137:129-137.

Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature.* 1994; 372(6505):425-432.

Zhang Z, Zhang H, Hu Z, Wang P, Wan J, Li B. Synergy of 1,25-dihydroxyvitamin D3 and carboplatin in growth suppression of SKOV-3 cells. *Oncol Lett.* 2014; 8(3):1348-1354.