

EMBARGO

Por solicitação da autora, o
texto completo da
Dissertação está embargado
até ***14/01/2025***

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS ARAÇATUBA

MARIA FERNANDA DA SILVA LOPES

**Substâncias obesogênicas alteram a expressão de RNAs
longos não-codificadores de maneira transgeracional**

Araçatuba
2021

MARIA FERNANDA DA SILVA LOPES

**Substâncias obesogênicas alteram a expressão de RNAs
longos não-codificadores de maneira transgeracional**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Área de Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal).

Orientadora: Pesquisadora Flávia Lombardi
Lopes

Araçatuba

2021

L864s Lopes, Maria Fernanda da Silva
Substâncias obesogênicas alteram a expressão de RNAs
longos não-codificadores de maneira transgeracional / Maria
Fernanda da Silva Lopes. -- Araçatuba, 2021
47 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba
Orientadora: Flávia Lombardi Lopes

1. Epigenética. 2. Substâncias obesogênicas. 3.
Camundongo. 4. LncRNA. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da
Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

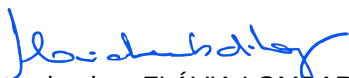
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: **Substâncias obsogênicas alteram a expressão de RNAs longos não-codificadores de maneira transgeracional.**

AUTORA: MARIA FERNANDA DA SILVA LOPES

ORIENTADORA: FLÁVIA LOMBARDI LOPES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

A handwritten signature in blue ink, which appears to read "Flávia Lombardi Lopes", is positioned above the printed name of the researcher.

Pesquisadora FLÁVIA LOMBARDI LOPES (Participação Virtual)

Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba - Unesp

Profa. Dra. CRISTINA ANTONIALI SILVA (Participação Virtual)

Departamento de Ciências Básicas / Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP

Prof. Dr. YURI TANI UTSUNOMIYA (Participação Virtual)

Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Araçatuba, 14 de janeiro de 2021.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: Substâncias obsogênicas alteram a expressão de RNAs longos não-codificadores de maneira transgeracional

AUTORA: MARIA FERNANDA DA SILVA LOPES

ORIENTADORA: FLÁVIA LOMBARDI LOPES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Pesquisadora FLÁVIA LOMBARDI LOPES (Participação Virtual)
Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba - Unesp

Profa. Dra. CRISTINA ANTONIALI SILVA (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Básicas / Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Cristina Antoniali Silva", is placed to the right of the text identifying the professor.

Prof. Dr. YURI TANI UTSUNOMIYA (Participação Virtual)
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Araçatuba, 14 de janeiro de 2021.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: Substâncias obsogênicas alteram a expressão de RNAs longos não-codificadores de maneira transgeracional

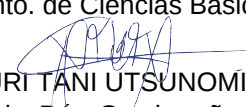
AUTORA: MARIA FERNANDA DA SILVA LOPES

ORIENTADORA: FLÁVIA LOMBARDI LOPES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Pesquisadora FLÁVIA LOMBARDI LOPES (Participação Virtual)
Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba - Unesp

Profa. Dra. CRISTINA ANTONIALI SILVA (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Básicas / Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP


Prof. Dr. YURI TANI UTSUNOMIYA (Participação Virtual)
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Araçatuba, 14 de janeiro de 2021.

À minha família, com muito amor e carinho,
por sua intensa dedicação e apoio durante
a elaboração deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, em especial aos meus pais, à minha irmã e ao meu namorado Lucas, que sempre acreditaram em mim e me deram todo o apoio e incentivo nos momentos em que mais precisei, principalmente nos mais difíceis. Sou imensamente grata por tudo que fizeram por mim e por aceitarem compartilhar esta jornada ao meu lado. Amo vocês, serão sempre a minha base de tudo!

Às minhas amigas que a ciência me presenteou: Amanda Furlan, Beatriz Trigo, Juliana Felix, Jéssica Troiano, Mariana Cordeiro, Natália Scaramelle e Nayra Herrera. Obrigada pelo companheirismo, pelas conversas, conselhos, alegrias e tristezas compartilhadas durante essa caminhada.

À minha orientadora, Profa. Dra. Flávia Lombardi Lopes, que me deu a oportunidade de fazer parte da equipe do seu laboratório de Epigenômica, confiando inteiramente a mim a condução deste trabalho. Palavras não são suficientes para descrever minha imensa gratidão.

À UNESP – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba (UNESP/FMVA), pela oportunidade de realização do mestrado.

A todos os professores e colaboradores do Departamento de Produção e Saúde Animal.

À minha banca de qualificação, Prof. Dr. Yuri Tani Utsunomyia e a Profa. Dra. Joselaine de Oliveira, que me servem de exemplo profissional pela dedicação e comprometimento, obrigado pelas considerações dadas ao meu trabalho.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado.

“O que é escrito sem esforço, em geral, é lido sem prazer”.

(Samuel Johnson)

LOPES, M.F.S. **Substâncias obesogênicas alteram a expressão de RNAs longos não-codificadores de maneira transgeracional**. 2021. 47 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2021.

RESUMO

A epidemia da obesidade é considerada uma crise mundial de Saúde Pública, tendo como fatores contribuintes o aumento da ingestão calórica, estilos de vida sedentários e/ou predisposições genéticas. Ainda que o balanço energético positivo seja uma das causas mais significativas da obesidade, pesquisas recentes relacionam a epidemia da doença à exposição precoce a produtos químicos desreguladores endócrinos (DEs) (do inglês, *Endocrine-Disrupting Chemicals* - EDCs). A Sociedade Endócrina define DEs como “substâncias químicas exógenas, ou misturas de substâncias químicas, que interferem em qualquer aspecto da ação hormonal”. Substâncias obesogênicas compõem um subconjunto de DEs que estimulam inadequadamente a adipogênese e o armazenamento de gordura direta ou indiretamente, aumentando o número e/ou o tamanho das células adiposas, ou interferindo na regulação hormonal do metabolismo, apetite e saciedade. A exposição a essas substâncias químicas durante o período intrauterino e/ou de lactação pode influenciar fortemente a predisposição tardia à obesidade. Os RNAs longos não-codificadores (lncRNAs) são caracterizados por desempenhar relevantes papéis regulatórios em diversos processos biológicos. Considerando a importância da nutrição materna para a regulação dos padrões epigenéticos da prole, o presente estudo visa elucidar os efeitos da exposição ancestral a substâncias obesogênicas na expressão de lncRNAs no tecido adiposo gonadal de camundongos. Os dados de RNA-Seq de 8 amostras de tecido adiposo gonadal de camundongos F4 adultos expostos ancestralmente a dimetilsulfóxido (DMSO) (0,1%) como grupo controle, ou ao DE TBT (50 nM) durante o desenvolvimento uterino e lactação, foram obtidos de estudo previamente realizado (NCBI - GEO Datasets - GSE105051). Após alinhamento e contagem das *reads*, foi realizada análise de expressão diferencial, e identificamos 74 lncRNAs diferencialmente expressos ($p < 0.05$), visto que 22 apresentaram expressão aumentada no grupo TBT e 52 estavam mais expressos no grupo DMSO em relação ao TBT. As análises dos termos de ontologia gênica (do inglês *Gene Ontology* - GO) revelaram o enriquecimento dos processos relacionados ao metabolismo da glicose e

à atividade do receptor ativado por Wnt. Sendo assim, nossos resultados sugerem que a regulação dos lncRNAs e de seus genes parceiros podem contribuir para o controle do processo de adipogênese.

Palavras-chave: Epigenética. Substâncias obesogênicas. Camundongo. LncRNA.

LOPES, M. F. S. **Obesogenic substances alter the expression of long non-coding RNAs in a transgenerational manner.** 2021. 47 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2021.

ABSTRACT

The obesity epidemic is considered a global public health crisis. Increased caloric intake, sedentary lifestyles and/or genetic predisposition are all factors contributing to the epidemic. Although the positive energy balance is one of the most significant causes of obesity, recent research has linked early exposure to Endocrine-Disrupting Chemicals (EDCs) to the disease. The Endocrine Society defines EDCs as "exogenous chemicals, or mixtures of chemicals, that interfere with any aspect of hormonal action". Obesogenic substances make up a subset of EDCs that inadequately stimulate adipogenesis and fat storage directly or indirectly, increasing the number and/or size of fat cells, or interfering with the hormonal regulation of metabolism, appetite and satiety. Exposure to these chemicals during intrauterine and/or lactation periods can strongly influence the late predisposition to obesity. Long noncoding RNAs (lncRNAs) are characterized by playing important regulatory roles in several biological processes. Considering the importance of maternal nutrition to the regulation of epigenetic patterns in the offspring, the present study aimed at investigating the effects of ancestral exposure to obesogenic substances on the expression of lncRNAs in the gonadal adipose tissue of mice. RNA-seq data from 8 gonadal adipose tissue samples from adult F4 mice ancestrally exposed to dimethyl sulfoxide (DMSO) (0.1%) as a control group, or to EDC TBT (50 nM) during uterine development and lactation, were obtained from a previously conducted study (NCBI - GEO Datasets - GSE105051). After reading alignment and counting, differential expression analysis was performed, and we identified 74 differentially expressed lncRNAs were identified ($p < 0.05$), as 22 showed increased expression in the TBT group and 52 were more expressed in the TBT group. The analysis of the GO terms revealed an enrichment for glucose metabolism and the activity of the receptor activated by Wnt. Therefore, our results suggest that the regulation of lncRNAs and their partner genes may contribute to the control of the adipogenesis process.

Keywords: Epigenetics. Obesogenic substances. Mouse. LncRNA.

APÊNDICE A – Referências da Introdução Geral

1. Chamorro-Garcia R, Diaz-Castillo C, Shoucri BM, Käch H, Leavitt R, Shioda T, et al. Ancestral perinatal obesogen exposure results in a transgenerational thrifty phenotype in mice. *Nat Commun* [Internet]. 2017;8(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-017-01944-z>
2. Chamorro-García R, Blumberg B. Transgenerational effects of obesogens and the obesity epidemic. *Curr Opin Pharmacol*. 2014;19:153–8.
3. Gore AC, Crews D, Doan LL, Merrill M La, Patisaul H, Zota A. Introdução aos disruptores endócrinos (DEs). *Endocrine Soc*. 2014;76.
4. Janesick AS, Blumberg B. Obesogens: An emerging threat to public health. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;214(5):559–65.
5. Chmurzynska A. Fetal programming: Link between early nutrition, DNA methylation, and complex diseases. *Nutr Rev*. 2010;68(2):87–98.
6. Lan X, Cretney EC, Kropp J, Khateeb K, Berg MA, Peñagaricano F, et al. Maternal Diet during Pregnancy Induces Gene Expression and DNA Methylation Changes in Fetal Tissues in Sheep. *Front Genet*. 2013;4(49):1–12.
7. Burdge GC, Hanson MA, Slater-Jefferies JL, Lillycrop KA. Epigenetic regulation of transcription: A mechanism for inducing variations in phenotype (fetal programming) by differences in nutrition during early life? *Br J Nutr*. 2007;97(6):1036–46.
8. BARKER DJP. The fetal and infant origins of disease. *Eur J Clin Invest*. 1995;25:451–63.
9. Anderson OS, Sant KE, Dolinoy DC. Nutrition and epigenetics: An interplay of dietary methyl donors, one-carbon metabolism, and DNA methylation. *J Nutr Biochem*. 2015;23(08):853–9.

10. Tost J. Epigenetics. Norfolk UK by Caister Acad Press. 2008;404.
11. Levenson JM, Sweatt JD. EPIGENETIC MECHANISMS IN MEMORY FORMATION. *Nat Rev Neurosci*. 2005;6(February):108–18.
12. Tang W, Ho S. Epigenetic reprogramming and imprinting in origins of disease. *Rev Endocr Metab Disord*. 2014;8(2):173–82.
13. Dogini DB, Pascoal VDB, Avansini SH, Vieira AS, Pereira TC, Lopes-Cendes I. The new world of RNAs. *Genet Mol Biol*. 2014;v.37(1):285–93.
14. Palazzo AF, Lee ES. Non-coding RNA: What is functional and what is junk? *Front Genet*. 2015;6(2):1–11.
15. Brosius J, Raabe CA. What is an RNA? A top layer for RNA classification. *Nat Biotechnol*. 2016;34(2):140–4.
16. Long Y, Wang X, Youmans DT, Cech TR. How do lncRNAs regulate transcription? *Sci Adv*. 2017;3(9):1–13.
17. Liao Q, Liu C, Yuan X, Kang S, Miao R, Xiao H, et al. Large-scale prediction of long non-coding RNA functions in a coding-non-coding gene co-expression network. *Nucleic Acids Res*. 2011;39(9):3864–78.
18. Charles Richard JL, Eichhorn PJA. Platforms for Investigating lncRNA Functions. *SLAS Technol*. 2018;23(6):493–506.
19. Cabili MN, Trapnell C, Goff L, Koziol M, Tazon-Vega B, Regev A, et al. Integrative annotation of human large intergenic noncoding RNAs reveals global properties and specific subclasses. *Genes Dev*. 2012;25(18):1915–1927.
20. Bhat SA, Ahmad SM, Mumtaz PT, Malik AA, Dar MA, Urwat U, et al. Long non-coding RNAs: Mechanism of action and functional utility. *Non-coding RNA Res*.

2016;1(1):43–50.

21. Sun Z, Nair A, Chen X, Prodduturi N, Wang J, Kocher P. UCIncR : Ultrafast and comprehensive long non-coding RNA detection from RNA-seq. *Sci Rep.* 2017;7(14196):1–10.