

BRUNA DE ARAUJO CARDOSO DOS SANTOS

**DELEÇÃO DA OLIGOPEPTIDASE THOP1 REGRIDE QUADRO DE
ESTEATOHEPATITE SEVERA EM CAMUNDONGOS: POSSÍVEL INTERAÇÃO
ENTRE PEPTÍDEOS E MICRORNAs**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Farmacologia do Instituto de
Ciências Biomédicas da Universidade de São
Paulo, para obtenção do Título de Mestre em
Ciências

SÃO PAULO

2021

RESUMO

Santos, BAC. Deleção da oligopeptidase thop1 regride quadro de esteatohepatite severa em camundongos: possível interação entre peptídeos e microRNAs, [Dissertação (Mestrado em Farmacologia)] - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) compreende um espectro de doenças que vai desde a presença de esteatose hepática (acúmulo de gordura no parênquima hepático sem inflamação) na ausência do consumo excessivo de álcool até a esteatohepatite, caracterizada pela esteatose junto à hipertrofia do hepatócito e inflamação lobular, podendo progredir, a longo prazo, para fibrose, cirrose e carcinoma hepatocelular. Camundongos *knockout* para a enzima thimet-oligopeptidase (THOP^{-/-}) se mostram resistentes à indução da obesidade e DHGNA por dieta hiperlipídica, e apresentam alteração na expressão de microRNAs previamente associados à DHGNA. Com o intuito de clarificar como a deleção da THOP1 protege o animal de desenvolver esteatohepatite e como esse mecanismo pode estar associado aos microRNAs, utilizamos animais C57Bl/6 *wild type* e THOP^{-/-} alimentados com dieta controle ou deficiente em colina e hiperlipídica, que mimetiza melhor a evolução da doença, por 8, 15 e 24 semanas. Após o tempo de experimentação, os animais foram eutanasiados e o fígado foi recolhido para análise da histologia hepática e das vias metabólicas através da expressão gênica por qPCR. Os resultados obtidos indicam que, a longo prazo, o genótipo THOP^{-/-} promove um fenótipo resistente a obesidade, esteatohepatite e fibrose. Essa melhora do fenótipo está relacionada à diminuição do miR-34a e das vias metabólicas e inflamatórias que envolvem Pparg, Ucp2, Tnfa, IL-6, IL-10, IL-17, Tgfb, a-sma, Col1a1 e Timp1. A diminuição dessas vias parece estar relacionada com o acúmulo de VDPVNFK, ao longo do tempo, que pode modular a expressão do miR-34a, assim inibindo a ação deste microRNA e permitindo que as vias de sinalização funcionem para diminuir o acúmulo lipídico e suas consequências.

Palavras chave: thimet oligopeptidase; microRNA; peptídeos intracelulares; DHGNA

ABSTRACT

Santos, BAC. Deletion of thop1 oligopeptidase regresses severe steatohepatitis in mice: possible interaction between peptides and microRNAs. [dissertation (Master in Pharmacology)] - Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, 2021.

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) comprises a spectrum of diseases ranging from the presence of hepatic steatosis (accumulation of fat in the liver parenchyma without inflammation) in the absence of excessive alcohol consumption to steatohepatitis, characterized by steatosis along with hypertrophy of the hepatocyte and lobular inflammation, which may progress, in the long term, to fibrosis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Mouse knockout for an enzyme thimet oligopeptidase (THOP^{-/-}) is resistant to the induction of obesity and NAFLD by a high-fat diet, and shows changes in the expression of microRNAs previously associated with NAFLD. In order to clarify how the THOP1 deletion protects the animal from developing steatohepatitis and how this mechanism can be associated with microRNAs, we used C57Bl/6 wild type and THOP^{-/-} animals fed a choline-deficient and hyperlipidic diet, which better mimics the evolution of the disease, for 8, 15 and 24 weeks. After the experimentation period, the animals were euthanized and the liver was collected for analysis of liver histology and metabolic pathways through gene expression by qPCR. The results obtained indicate that, in the long term, the THOP^{-/-} genotype promotes a phenotype resistant to obesity, steatohepatitis and fibrosis. This improvement in the phenotype is related to the downregulation of miR-34a and the metabolic and inflammatory pathways that involves Pparg, Ucp2, Tnfa, IL-6, IL-10, IL-17, Tgfb, a-sma, Col1a1 and Timp1. The decrease in these pathways seems to be related to the accumulation of VDPVNFK, over time, which can modulate the expression of miR-34a, thus inhibiting the action of this microRNA and allowing the signaling pathways to work to decrease lipid accumulation and its consequences.

Keywords: thimet oligopeptidase; microRNA; intracellular peptides; NAFLD

1. Introdução

As mudanças no estilo de vida desenvolvidas no último século levaram ao aumento do sedentarismo, propiciando um desbalanço na quantidade de calorias ingeridas e calorias gastas (Younossi et al, 2019) que junto à fatores genéticos levou a um aumento de sobrepeso (IMC entre 25 e 29,9 m²) e obesidade (IMC ≥ 30 m²) na população mundial (Sivell, 2019). A obesidade é um fator de risco para síndrome metabólica e comorbidades que incluem diabetes mellitus tipo 2, doença hepática gordurosa não alcoólica, hipertensão, hiperlipidemia, doença renal crônica, doença cardiovascular, apneia obstrutiva do sono e osteoartrite, elevando a mortalidade em indivíduos obesos (Polyzos et al, 2018). De acordo com Chang et al (2016), pacientes com sobrepeso obesos metabolicamente saudáveis, tem 2,15 e 3,55 vezes, respectivamente, mais chances de desenvolver DHGNA (doença hepática gordurosa não alcoólica) do que pacientes com peso normal.

A DHGNA é a forma mais comum da doença hepática crônica ao redor do mundo, impulsionada principalmente pela epidemia de obesidade (Younossi et al, 2019). Desde a década de 30 há indícios da relação entre a esteatose hepática e a obesidade, no entanto apenas na década de 80 Ludwig junto ao seu grupo de pesquisa conseguiu distinguir histologicamente a esteatohepatite alcoólica (EHA) da não alcoólica (EHNA), e relacioná-la à obesidade (Sanyal, 2019).

A mortalidade causada pela DHGNA tem aumentado em contrapartida ao decréscimo da mortalidade causada pelas hepatites virais por conta da introdução de terapias virais de ação direta (Polyzos et al, 2018; Kim et al, 2018). Além disso, atualmente a DHGNA é a segunda maior causa do transplante de fígado, ficando atrás apenas da hepatite C crônica, e a tendência é que ela chegue ao primeiro lugar (Younossi et al, 2019).

1.1. Epidemiologia da DHGNA

Em 2018, estimou-se que 25% da população mundial era afetada pela DHGNA. Na América do Norte, a prevalência é de 24% e na América do Sul, observou-se que a incidência era de 32% sobre a população e que essa estava intimamente ligada à prevalência da obesidade em cada continente. Na Europa a

incidência é estimada de 20 - 30%; essa variação ocorre pelas diferenças, entre os países, nos índices populacionais de obesidade e diabetes mellitus tipo 2. Na Ásia a prevalência varia entre 15 e 40% pelos mesmos motivos europeus. Na África os números variam entre 5 e 30%, essa oscilação ocorre porque há poucos estudos epidemiológicos de DHGNA na África (Younossi et. al., 2019).

Em 2011 Cotrim et al., realizaram um estudo multicêntrico no Brasil em pacientes com DHGNA e observaram que 53,3% dos pacientes eram homens, 85% eram assintomáticos, 44,7% eram obesos e 41,3% tinham desenvolvido síndrome metabólica. Além disso, o mesmo grupo também observou que nos casos em que foi realizada biópsia hepática havia alto índice de esteatohepatite – 58%, e destes 27% também apresentavam fibrose.

Andrade et al (2016), realizaram um estudo epidemiológico com 62 pacientes em São José do Rio Preto - São Paulo e observaram que 76% dos pacientes com DHGNA eram mulheres, 71% eram assintomáticos, 39% tinham sobrepeso e 45% eram obesos. Coelho (2019) realizou outro estudo no hospital geral de Fortaleza e observou que dos 83 pacientes com DHGNA, 80,7% eram mulheres, 88% apresentavam sobrepeso ou obesidade. Coelho ainda observou que dos 60 pacientes submetidos à elastografia hepática, 65% exibiram pelo menos um grau de fibrose e 10% apresentaram cirrose.

De acordo com Than et al (2015), a prevalência da DHGNA em pacientes com peso normal sem a presença de fatores de riscos metabólicos é de 16%, aumentando para 43-60% em pacientes com diabetes, 91% para pacientes obesos submetidos a bariátrica e até 90% para pacientes com hiperlipidemia. Além disso, a prevalência da DHGNA também aumenta com a idade de menos de 20% abaixo de 20 anos para mais de 40% com idade acima de 60 anos.

Apesar da alta incidência da DHGNA, apenas de 20% evoluem para casos de EHNA, dos quais 25%, em decorrência do acúmulo de gordura no parênquima hepático com inflamação, progredem para fibrose, que, de acordo com o estágio, pode avançar para cirrose, que de maneira progressiva causa carcinoma hepatocelular. Os outros 75% não obrigatoriamente evoluem para cirrose, se permanecerem nos estágios de fibrose compensados (Than et al, 2015). Menos de

1% dos pacientes com esteatose ainda podem progredir para CHC (carcinoma hepatocelular) não cirrótico (Buzzetti et al., 2016)

Indo de encontro ao descrito no parágrafo anterior, Cotrim et al. (2016), realizaram uma pesquisa em 6 estados brasileiros com 110 pacientes com CHC derivado da DHGNA e mostraram que destes, 65,5% eram homens, 52,7% eram obesos e 60% tinham síndrome metabólica, além disso ela ainda demonstrou que um número elevado de pacientes (30,8%) desenvolveram CHC com esteatohepatite sem cirrose.

1.2. Etiologia da DHGNA

A DHGNA integra um espectro de doenças que vai desde uma simples esteatose até a EHNA que é o acúmulo de gordura no parênquima hepático com inflamação, fibrose, cirrose e podendo progredir para CHC a longo prazo. (Than et al, 2015; Buzzetti et al, 2016).

A doença hepática gordurosa não alcoólica é caracterizada pelo acúmulo de gordura no parênquima hepático sem inflamação na ausência do consumo excessivo de álcool (≤ 20 /dia para homens e 10g/dia para mulheres) ou do uso de fármacos esteatogênicos de longo prazo, como amiodarona ou corticosteróides (Than et al, 2015; Buzzetti et al, 2016; Sivell, 2019).

A relação da DHGNA com a síndrome metabólica pode ser bidirecional, principalmente quando relacionado à diabetes e hipertensão, o que sugere que assim como a síndrome metabólica aumenta o risco de DHGNA, a DHGNA também aumenta diversas características e comorbidades da síndrome metabólica. Logo, um tratamento eficaz para DHGNA pode ter o benefício adicional de melhorar as características da síndrome metabólica (Friedman et al, 2018).

De interesse diferentes grupos étnicos têm propensões díspares à doença avançada: indivíduos hispânicos são mais suscetíveis que pacientes brancos, enquanto pacientes negros tem menos suscetibilidade (Sanyal, 2019; Sivell, 2019; Younossi et al, 2017). A menor incidência do espectro DHGNA em pacientes afro americanos nos Estados Unidos é relativa às diferenças genéticas no metabolismo lipídico, ou seja, esse grupo de pacientes têm níveis séricos de triglicérides menores e maiores níveis de HDL (Lipoproteína de alta densidade) que pacientes hispânicos

ou brancos com DHGNA (Younossi et al, 2017). Além disso, fatores genéticos, como o polimorfismo do gene *PNPLA3* (proteína 3 contendo o domínio fosfolipase do tipo patatina), que regula a lipólise das vesículas de lipídios nos hepatócitos; *TM6SF2* (transmembrana 6 membro da superfamília 2), *CD14* e *GCLC* (*Glutamate—cysteine ligase catalytic subunit*) são relacionados a uma progressão mais agressiva do espectro DHGNA (Yilmaz, 2012; Younossi et al, 2017; Friedman et al, 2018).

O polimorfismo de *PNPLA3* é um dos fatores genéticos mais relacionados à EHNA (Younossi et al, 2017). Ocorre por polimorfismo de nucleotídeo único rs738409 C>G que resulta em uma substituição de isoleucina por uma metionina na posição 148 (p.Ile148Met) (Yilmaz, 2012), anulando a atividade de hidrólise de triglicerídeos de *PNPLA3* (Kawaguchi et al, 2012). Esse polimorfismo foi relacionado à presença de necroinflamação hepática (Kawaguchi et al, 2012), inflamação portal, inflamação lobular e fibrose (Rotman et al, 2010; Yilmaz, 2012).

Todavia a predisposição genética deve ser inserida no contexto de fatores ambientais, pois estes também possuem papel significativo no desenvolvimento da doença. Os principais fatores não genéticos são os hábitos alimentares, o sedentarismo e fatores socioeconômicos (Younossi et al, 2017). Estudos socioeconômicos mostram que a insegurança alimentar pode ser um fator de risco não genético independente associado à DHGNA em famílias de baixa renda (Golovaty et al, 2019).

A insegurança alimentar é definida como “disponibilidade limitada ou incerta de alimentos nutricionalmente adequados e seguros ou capacidade limitada ou incerta de adquirir alimentos aceitáveis de formas socialmente aceitáveis” (Frohme et al, 2020). De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2020), entre 2017 e 2018, dos 68,9 milhões de lares brasileiros, 36,7% apresentaram algum nível de insegurança alimentar. Segundo Golovaty et al. (2019), a insegurança alimentar pode provocar um ciclo complexo de ingestão alimentar deficiente e consumo excessivo compensatório de alimentos de má qualidade, causando um risco metabólico aumentado. Além disso, baixos níveis de atividade física estão associados ao desenvolvimento de DHGNA (Younossi et al, 2017).

1.3. Patogênese da DHGNA

Atualmente, o modelo mais aceito para desenvolvimento da EHNA é o da teoria de múltiplos *hits* (*Multiple-hits Hypothesis*), na qual se propõe que vários *hits* podem atuar em paralelo, finalmente resultando em inflamação do fígado. Nessa teoria os hábitos alimentares, fatores genéticos, epigenéticos e ambientais podem conduzir ao desenvolvimento de resistência à insulina, obesidade com proliferação de adipócitos e mudanças na microbiota intestinal (Tilg & Moschen, 2010; Buzzetti et. al., 2016; Friedman et al., 2018; Tilg, Adolph & Moschen, 2021) (**Figura 1**).

De acordo com essa teoria, a condição inicial para acúmulo de ácidos graxos nos hepatócitos é a resistência à insulina, pois resulta em um aumento da *de novo lipogênese* (DNL) hepática (isto é, conversão de carboidratos em lipídeos para armazenamento), diminuição da oxidação de ácidos graxos livres (AGLs), prejudica a lipólise do tecido adiposo, com consequente aumento do influxo de AGLs para o fígado e diminuição da secreção hepática de VLDL (*very low density lipoprotein-triglyceride*) (Tilg & Moschen, 2010; Buzzetti et. al., 2016; Friedman et al., 2018).

A resistência à insulina também causa disfunção no tecido adiposo, levando a uma alteração na produção e secreção de adipocinas e citocinas pró inflamatórias (Tilg & Moschen, 2010; Buzzetti et. al., 2016; Friedman et al., 2018). A adiponectina é uma citocina anti-inflamatória que sinaliza através dos receptores de adiponectina adipor1 e adipor2. Ao se ligar ao adipor1 hepático, a adiponectina ativa a via Ampk/Sirt1 que leva a inibição do acúmulo hepático de lipídeos. No entanto, a obesidade provoca hipoadiponectinemia, inibindo esse mecanismo e contribuindo para o acúmulo lipídico hepático (Tilg & Moschen, 2010; Buzzetti et. al., 2016). Em pacientes obesos os níveis de leptina aumentam como consequência da resistência à leptina e ela passa a ter um papel pró fibrinogênico (Buzzetti et. al., 2016). A leptina estimula as células de Kupffer a produzir Tgf-b1 (fator de crescimento transformador beta 1) e posteriormente também ativa as células estreladas através das vias *hedgehog* e *mTOR* (proteína alvo da rapamicina em mamíferos) (Buzzetti et. al., 2016).

A disfunção no tecido adiposo ainda provoca o aumento da produção de citocinas como Il-6, Tnfa e Jnk pelo tecido adiposo, que ao serem liberadas para a

circulação passam a favorecer a inflamação hepática ao ativar as células estreladas quiescentes, assim promovendo a deposição de matriz fibrosa (Tilg et al, 2010; Buzzetti et al, 2016).

A gordura se acumula no fígado na forma de triglicerídeos (TG), o que ocorre contemporaneamente com aumento da lipotoxicidade gerada pelos AGLs, colesterol livre e outros metabólitos lipídicos. Os AGLs e o colesterol, principalmente quando acumulados nas mitocôndrias, são tidos como os lipídeos “agressivos” que levam ao dano hepático mediado pelo fator de necrose tumoral alfa (TNF α) e a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Tilg & Moschen, 2010).

Além disso, a alteração da microbiota intestinal causa a produção adicional de AG no intestino, aumento da permeabilidade do intestino delgado e, portanto, aumento da absorção de AG. Como consequência, a disfunção mitocondrial com estresse oxidativo e produção de ROS e mecanismos associados ao estresse do retículo endoplasmático são ativados, sendo esses os principais fatores para o desenvolvimento da inflamação, apoptose celular e fibrose (Buzzetti et al, 2016).

As mudanças na microbiota intestinal e aumento da permeabilidade do intestino podem causar aumento circulante de lipopolissacarídeo (LPS; endotoxina), denominada endotoxemia (inflamação de baixo grau), que exerce importante papel nas respostas imunes inatas (Tilg & Morshen, 2010; Kirpich et al., 2015; Ghetti et al., 2017). O LPS promove a produção de citocinas pró-inflamatórias nos macrófagos hepáticos, resultando na inflamação hepatocelular (Kirpich et al., 2015).

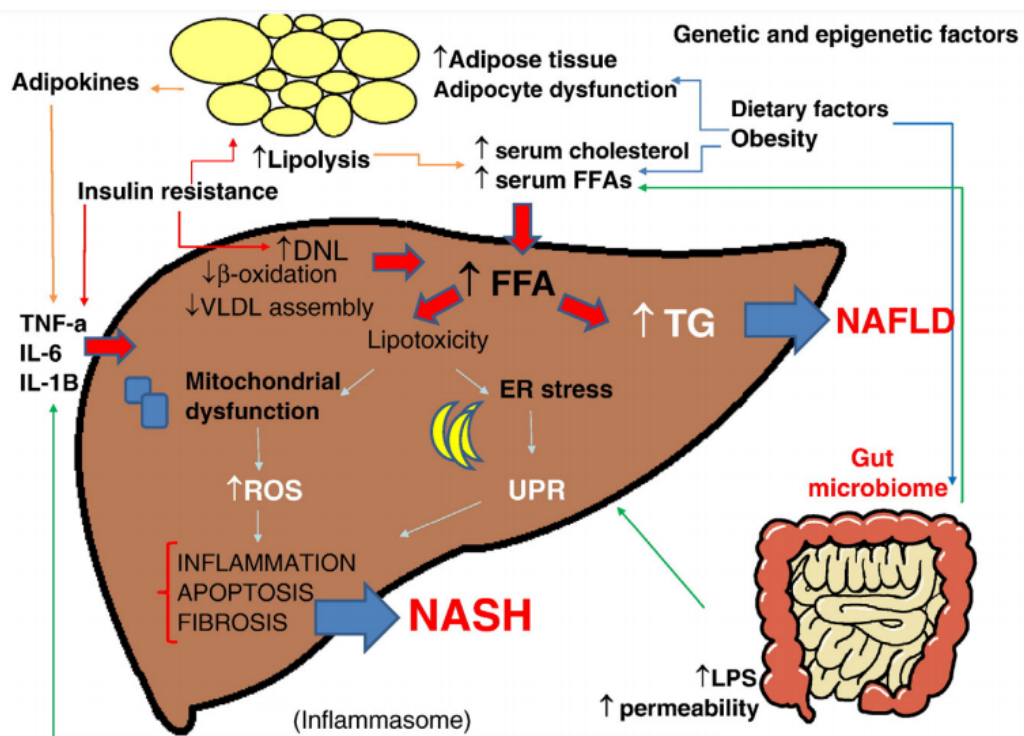
O LPS é reconhecido por receptores de reconhecimento de padrões, dentre eles os receptores *toll-like* (TLR), principalmente o TLR4 e TLR9 (Kirpich et al., 2015; Ghetti et al., 2017). No fígado saudável as vias dos TLRs são quiescentes, no entanto, com o aumento de LPS circulante que chega ao fígado, essas vias são ativadas (Miura & Ohnishi, 2014). A estimulação de TLR4 em células de Kupffer induz a produção de citocinas inflamatórias, como TNF α , e ROS. A interação entre LPS e TLR4 também ativa receptores em células estreladas hepáticas, resultando na fibrogênese hepática (Ghetti et al., 2017). O aumento dos níveis de LPS ainda pode causar lesão hepática através de um mecanismo mediado por inflamassoma que inclui proteínas NLRP (*Nucleotide-binding oligomerization domain*), que por sua

vez manipulam a clivagem de interleucinas pró-inflamatórias como as interleucinas 1 beta (IL-1 β) e 18 (IL-18) (Kirpich et al., 2015; Ghetti et al., 2017).

Em indivíduos com predisposição genética (Yilmaz, 2012; Younossi et al, 2017; Friedman et al, 2018) ou modificações epigenéticas (incluindo metilação do DNA, modificação de histonas e alteração na expressão de microRNAs) (Buzzetti et al, 2016; Xu et al, 2020) podem afetar o conteúdo de gordura nos hepatócitos e o ambiente inflamatório no fígado, e assim levando a um estado de inflamação crônica por vias heterogêneas de danos hepatocelulares, com possível progressão a morte hepatocelular, ativação de células hepática estrelada e deposição de matriz fibrosa (Buzzetti et al, 2016).

Apesar do conhecimento geral que esteatose precede a inflamação, há evidências de que a EHNA e a esteatose podem surgir como duas condições similares independentes e a inflamação pode preceder a esteatose (Tig & Moschen 2010): o momento em que se combinam os fatores genéticos, eventos externos e intracelulares, em vez da soma simples de insultos hepáticos resultam em diferentes vias que levam a esteatose ou à EHNA, respectivamente (Yilmaz et al, 2012).

Figura 1. Multiple Hit Hypothesis.



Legenda: Hipótese de múltiplos *hits* para o desenvolvimento da DHGNA. Fatores alimentares e ambientais junto à obesidade elevam os níveis séricos de AGLs e colesterol, desenvolvimento de resistência à insulina, incremento do tecido adiposo, alterações na microbiota intestinal. A resistência à insulina induz a lipólise do tecido adiposo e liberação de adipocinas e citocinas pró-inflamatórias, como TNF α e IL-6. No fígado a resistência à insulina amplifica a lipogênese de novo. O aumento do influxo de AGLs para o fígado deriva dos processos acima e de uma atividade alterada da microbiota intestinal. A síntese e o acúmulo de TG, níveis tóxicos de AGLs e colesterol causam disfunção mitocondrial com estresse oxidativo e produção de ROS pelo retículo endoplasmático, levando à inflamação hepática. Além disso, as alterações na microbiota intestinal causam a liberação de LPS e citocinas pró-inflamatórias que irão contribuir para o agravamento da inflamação. Fatores genéticos e modificações epigenéticas podem influenciar o risco de progressão para inflamação e fibrose (EHNA) ou a permanência em um estágio estável da doença (DHGNA) (Buzzetti et al, 2016).

1.4. THOP1 e a DGHNA

A Thimet oligopeptidase (EC 3.4.24.15; EP 24.15; THOP1) é uma oligopeptidase com 77 kDa que metaboliza peptídeos na faixa ideal de 8-12 aminoácidos, pois seu sítio catalítico fica profundamente localizado no fundo de um canal estreito (Brown, 2001; Ray, 2004; Gewehr et al, 2020). Esta oligopeptidase pertence à família M3 das metaloproteases, que por sua vez, possui outras oito oligopeptidases que possuem sequência similar a THOP1, como por exemplo a neurolisina (EP. 24.16) (Brown, 2001; Ray, 2004). Além da sequência similar, esta família de oligopeptidases também tem em comum o domínio: His-Glu-Xaa-Xaa-His (HEXXH), que faz parte do sítio ativo de ligação para o cofator de metal (Ray, 2004, Ferro et al, 2020).

A THOP1 é amplamente distribuída nos tecidos dos mamíferos, com altos níveis de expressão no cérebro, glândula pituitária, testículos e fígado (Ray et al, 2004; Gioli-Pereira et al, 2003). A THOP1 está presente em diferentes localizações subcelulares, conforme o tipo celular, já tendo sido descrita em sua forma secretada e citosólica, associada a membrana e ao núcleo, o que é consistente com uma diversidade de papéis fisiológicos (Ray, 2004; Icimoto et al, 2017, Gewehr et al, 2020). Já foi descrito que a THOP1 está presente principalmente nos hepatócitos

peri centrolobulares (zona 3) , o que é de extrema relevância visto que a maioria das hepatotoxinas que induzem necrose, além da lesão isquêmica, é predominante nesta região (Pereira, 2003).

A THOP1 hidrolisa variados peptídeos do sistema nervoso central e de outros tecidos, incluindo bradicinina, neurotensina, peptídeos opióides, angiotensina I e GnRH (Rioli et al, 2003; Icimoto et al, 2017; Ferro et al, 2020). Estudos mostram que a THOP1 tem um aumento de expressão relacionado a interações epigenéticas em adenocarcinoma de pulmão de mau prognóstico; e também está associada à apresentação de antígeno MHC-I e à inativação de diversos neuropeptídeos (Silva et al., 1999; Rioli et al, 2003; Heimann et al, 2005). Além disso, a THOP1 também demonstrou ter função na sepse, no metabolismo periférico da bradicinina relacionado à resposta inflamatória à dor e em afetar o comportamento dos animais, como depressão, atenção e retenção de memória (Santos et al, 2019). A THOP1 ainda foi relacionada ao Alzheimer e à retinopatia diabética precoce (Sundstrom et al, 2018).

Ainda que a maior atividade da THOP1 seja considerada no sistema neuroendócrino, sua expressão é relativamente mais alta no fígado (Nomoto et al, 2014). Nomoto et. al., 2014 e Shimizu et al, 2017, observaram que no carcinoma hepatocelular humano, a expressão da THOP1 se correlaciona positivamente com a evolução do carcinoma hepatocelular, o que sugere que a THOP1 possa ser um bom biomarcador preditivo para a evolução do carcinoma. Em um modelo primata de obesidade materna a THOP1 estava diminuída no fígado dos fetos e sua expressão era inversamente proporcional aos microRNA miR-130a-3p e miR-143-3p, que por sua vez tem a THOP1 como alvo (Puppala et al, 2018).

Um estudo recentemente publicado pelo nosso grupo, demonstrou que camundongos nocaute para THOP1 são protegidos da indução de obesidade e consequentemente de esteatose por dieta hiperlipídica, podendo ser esse um novo tratamento para obesidade e suas comorbidades (Gewehr et al, 2020). De interesse, os camundongos nocautes para THOP1 quando desafiados com dieta hiperlipídica apresentam uma regulação diferente de microRNAs no fígado encontrada nos animais selvagens obesos (Gewehr et al, 2020). Deste modo, surge a hipótese de que peptídeos possam interagir com microRNAs ou regular sua expressão.

1.5. Relação entre a THOP1, microRNAs e a DHGNA

Os microRNAs (miRNAs; miRs) são pequenos RNAs não codificadores que possuem de 19-22 nucleotídeos de tamanho. Eles se localizam em regiões intergênicas ou em íntrons de outros genes e estão geralmente envolvidos na regulação pós-transcricional da expressão gênica atuando por repressão translacional, promovendo a degradação do RNAm, através do pareamento parcial de bases na região 3'UTR dos RNAs alvos (Ambros et. al., 2004; Bartel et. al., 2004).

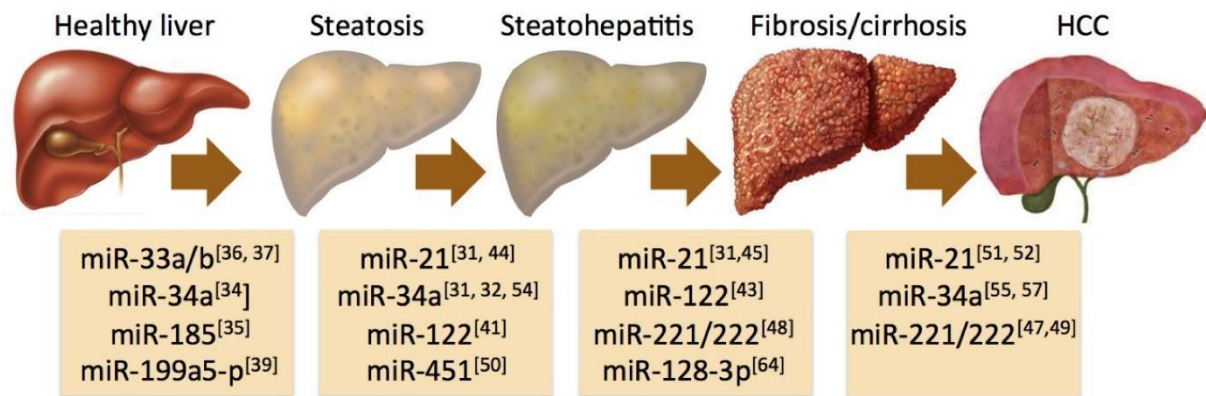
A biogênese canônica dos microRNAs tem início no núcleo da célula, a partir da transcrição do pri-miRNA a partir da RNA polimerase II, que por sua vez é clivado pelo complexo DROSHA+DGCR8 originando o pré-miRNA. A exportina-5 transporta o pré-microRNA para o citoplasma, onde mais uma vez ele é clivado pelo complexo Dicer, que separa a dupla fita, assim gerando o microRNA maduro. O microRNA maduro é carregado para o seu alvo pelo conjunto de proteínas RISC e AGO2. Quando interage com seus alvos, as ações do microRNA podem causar a repressão do RNAm ou inibir a tradução proteica (Bartel, 2004; Szabo et. al. 2013; Baffy, 2015).

Estudos recentes mostram que microRNAs circulantes podem atuar como biomarcadores da DHGNA e sua progressão (**Figura 2**) (Szabo et. al., 2013; Pirola et. al., 2014; Baffy, 2015; Becker et. al. 2015; Liu et. al., 2018). Um dos microRNAs mais responsivos a lipídeos é o miR-34a, que é altamente expresso no fígado e no soro de camundongos mantidos em dieta rica em gordura e em humanos seus níveis se correlacionam positivamente com a gravidade da EHNA (Castro et al, 2012; Baffy, 2015;). Um dos principais alvos do miR-34a é a SIRT-1, que tem papel fundamental na homeostase energética ao ativar fatores de transcrição como o PPAR α (receptor ativado por proliferador de peroxissoma alfa), LXR (receptor x do fígado) e p53 (proteína tumoral 53) (Pogribny et al., 2010; Rottiers & Näär, 2012; Baffy, 2015).

A ativação de p53 aumenta a expressão do miR-34a, que por sua vez induz apoptose e parada do ciclo celular na fase G1 (Tarasov et al., 2007; Rottiers & Näär, 2012). Ainda foi observado que a estimulação do receptor de endocanabinóide 1 (

CB1) favorece a expressão do miR-34a via ativação de p53 que agrava a injúria hepática pela via PPAR α /SIRT1.

Figura 2. Implicação de microRNAs nas principais transições da patogênese da DHGNA.



Legenda: miRNAs que apresentam ter um impacto na progressão da DHGNA. (Baffy, 2015)

Estudos recentes têm demonstrado que a interação dos microRNAs com proteínas vai além da participação destas em sua biogênese. Pai et. al. (2016) demonstraram, *in vitro*, que os peptídeos LKKLLKLLKKWLKLG e LKKLLKLLKLLWKLG inibiram a maturação do miR-155 catalisado pela Dicer e aumentaram a expressão dos genes alvos do miR-155. Pai et. al., utilizando modelagem molecular, sugere que um inibidor peptídico se liga preferencialmente à região apical do pré-miR-155, desta forma suprimindo o processamento do miR-155 pela Dicer. De forma similar ao estudo anterior, Shortridge et. al. (2017) demonstraram que o peptídeo L50 se liga ao pré-miR-21 em uma região que se sobrepõe ao local de clivagem da Dicer, assim inibindo o processamento do pré-miR-21. Usando modelagem molecular, Gewehr et al. (2020) observaram que os peptídeos May1 (AQGGVLPNIQAVLLPK) e May7 (SQTFPNADFAEITKL) interagem com pré-miR-143 e pré-miR-222 murino na região correspondente ao microRNA maduro, assim sugerindo que os que os peptídeos intracelulares poderiam regular as funções do microRNA interferindo em seu processamento e/ou estabilidade endógena.

Diante do exposto, a hipótese deste trabalho é que a deleção da THOP promove o acúmulo de oligopeptídeos que vão interferir, de forma direta e/ou

indireta, no processamento de microRNAs, causando assim a melhora do quadro esteatótico e fibrótico.

2. Conclusão

Diante do exposto e dos dados obtidos nesse projeto, sugerimos que a atenuação do quadro geral da DHGNA nos animais THOP^{-/-} ao longo do tempo seja pelo acúmulo do peptídeo VDPVNFK, que se liga ao CB1 inibindo a sua ação e conseqüentemente diminuindo a expressão do miR-34a, e de Pparg, que participam das vias de acúmulo de lipídeos e fibrose hepática, por ativação das células estreladas.

3. Referências

ABBAS, Abul K; LICHTMAN, Andrew H; PILLAI, Shiv. *Imunologia Celular e Molecular*. 8. ed. [S.l.]: Elsevier, 2015. 552 p

Ambros, V., 2004. The functions of animal microRNAs. *Nature*, 431(7006), pp.350–5. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nature02871>.

ANDRADE, Gabriel Costa de; FUJISE, Luciana Harumi; SANTANA FILHO, Jaime Euclides de; OLIVEIRA, Fabiane; SILVA, Rita de Cássia Martins Alves da. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in different populations: a clinical and epidemiological study in sample of são José do rio preto. *Revista da Associação Médica Brasileira*, [S.L.], v. 62, n. 3, p. 218-226, jun. 2016. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1806-9282.62.03.218>.

BAFFY, György. MicroRNAs in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Journal Of Clinical Medicine*, [s.l.], v. 4, n. 12, p.1977-1988, 4 dez. 2015. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/jcm4121953>.

Bartel, D.P., 2004. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116(2), pp.281–97. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14744438>.

BATALLER, Ramón; BRENNE, David A.. Liver fibrosis. *The Journal Of Clinical Investigation*, S.I, v. 115, n. 2, p. 209-218, fev. 2005.

BECKER, Philip P. et al. Performance of Serum microRNAs -122, -192 and -21 as Biomarkers in Patients with Non-Alcoholic Steatohepatitis. *Plos One*, [s.l.], v. 10, n. 11, p.0-0, 13 nov. 2015. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0142661>.

BRASIL. Ibge. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 10,3 milhões de pessoas moram em domicílios com insegurança alimentar grave. 2020. Disponível em: <https://censo2021.ibge.gov.br/2012-agencia-de-noticias/noticias/28903-10-3-milhoes-de-pessoas-moram-em-domicilios-com-inseguranca-alimentar-grave.html#:~:text=A%20inseguran%C3%A7a%20alimentar%20grave%20esteve,84%2C9%20milh%C3%B5es%20de%20pessoas..> Acesso em: 21 abr. 2021.

BROWN, C. K. et al. Structure of neurolysin reveals a deep channel that limits substrate access. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, [s.l.], v. 98, n. 6, p.3127-3132, 6 mar. 2001. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.051633198>.

BRUNT, Elizabeth M.; JANNEY, Christine G.; BISCEGLIE, Adrian M.; NEUSCHWANDER-TETRI, Brent A.; BACON, Bruce R.. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *The American Journal Of Gastroenterology*, [S.L.], v. 94, n. 9, p. 2467-2474, set. 1999. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.1999.01377.x>.

BUZZETTI, Elena; PINZANI, Massimo; TSOCHATZIS, Emmanuel A.. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism*, [s.l.], v. 65, n. 8, p.1038-1048, ago. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2015.12.012>.

CASTRO, Rui E.; FERREIRA, Duarte M.s.; AFONSO, Marta B.; BORRALHO, Pedro M.; MACHADO, Mariana V.; CORTEZ-PINTO, Helena; RODRIGUES, Cecília M.P.. MiR-34a/SIRT1/p53 is suppressed by ursodeoxycholic acid in the rat liver and activated by disease severity in human non-alcoholic fatty liver disease. *Journal Of*

Hepatology, [S.L.], v. 58, n. 1, p. 119-125, jan. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2012.08.008>.

CERQUEIRA, Leticia Bonancio. DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DA HEMOGLOBINA GLICADA POR LC-QTOF-MS. 2018. 137 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Área de Insumos, Medicamentos e Correlatos, Setor de Ciências da Saúde,, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2018.

CHANG, Yoosoo; JUNG, Hyun-Suk; CHO, Juhee; ZHANG, Yiyi; YUN, Kyung Eun; LAZO, Mariana; PASTOR-BARRIUSO, Roberto; AHN, Jiin; KIM, Chan-Won; RAMPAL, Sanjay. Metabolically Healthy Obesity and the Development of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. American Journal Of Gastroenterology, [S.L.], v. 111, n. 8, p. 1133-1140, ago. 2016. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2016.178>.

COELHO, Bhagavan de Castro. PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO DOS PACIENTES COM DOENÇA HEPÁTICA GORDUOSA NÃO ALCOÓLICA ACOMPANHADOS NO SERVIÇO DE GASTROENTEROLOGIA DO HOSPITAL GERAL DE FORTALEZA. 2019. 90 f. TCC (Graduação) - Curso de Residência Médica em Gastroenterologia, Gastroenterologia, Escola de Saúde Pública Hospital Geral de Fortaleza, Fortaleza, 2019.

COTRIM, Hp; OLIVEIRA, Cp; COELHO, Hs; ALVARES-DA-SILVA, Mr; NABUCO, L; PARISE, Er; IVANTES, C; MARTINELLI, Ai; GALIZZI-FILHO, J; CARRILHO, Fj. Nonalcoholic steatohepatitis and hepatocellular carcinoma: brazilian survey. Clinics, [S.L.], v. 71, n. 5, p. 281-284, 25 maio 2016. Fundacao Faculdade de Medicina. [http://dx.doi.org/10.6061/clinics/2016\(05\)07](http://dx.doi.org/10.6061/clinics/2016(05)07).

COTRIM, Helma P.; PARISE, Edison R.; OLIVEIRA, Claudia P.M.s.; LEITE, Natalhie; MARTINELLI, Ana; GALIZZI, Joào; SILVA, Rita de Càssia; MATTOS, Ângelo; PEREIRA, Leila; AMORIM, Waldir. Nonalcoholic fatty liver disease in Brazil. Clinical and histological profile. **Annals Of Hepatology**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 33-37, jan. 2011. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1665-2681\(19\)31584-4](http://dx.doi.org/10.1016/s1665-2681(19)31584-4).

COUNTERMAN, Anne E.; CLEMMER, David E.. Volumes of Individual Amino Acid Residues in Gas-Phase Peptide Ions. *Journal Of The American Chemical Society*, [S.L.], v. 121, n. 16, p. 4031-4039, abr. 1999. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ja984344p>.

FAN, Weimin, et al. Identification of CD206 as a potential biomarker of cancer stem-like cells and therapeutic agent in liver cancer. *Oncology Letters*, [S.I.], v. 3, n. 18, p. 3218-3226, out. 2019.

FELDSTEIN, A e; CHARATCHAROENWITTHAYA, P; TREEPRASERTSUK, S; BENSON, J T; ENDERS, F B; ANGULO, P. The natural history of non-alcoholic fatty liver disease in children: a follow-up study for up to 20 years. *Gut*, [S.L.], v. 58, n. 11, p. 1538-1544, 21 jul. 2009. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.2008.171280>.

FERRO, Emer S.; GEWEHR, Mayara C. F.; NAVON, Ami. Thimet Oligopeptidase Biochemical and Biological Significances: past, present, and future directions. *Biomolecules*, [S.L.], v. 10, n. 9, p. 1229, 24 ago. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/biom10091229>.

FITZSIMMONS, Rebecca L; LAU, Patrick; MUSCAT, George E.O. Retinoid-related orphan receptor alpha and the regulation of lipid homeostasis. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, [s.l.], v. 130, p. 159-168, jun, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2011.06.009>

FRANCQUE, Sven; SZABO, Gyongyi; ABDELMALEK, Manal F.; BYRNE, Christopher D.; CUSI, Kenneth; DUFOUR, Jean-François; RODEN, Michael; SACKS, Frank; TACKE, Frank. Nonalcoholic steatohepatitis: the role of peroxisome proliferator-activated receptors. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 24-39, 22 out. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41575-020-00366-5>.

FRIEDMAN, Scott L.; NEUSCHWANDER-TETRI, Brent A.; RINELLA, Mary; SANYAL, Arun J.. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nature Medicine*, [S.L.], v. 24, n. 7, p. 908-922, jul. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41591-018-0104-9>.

FROHME, Josephine; TACKE, Frank. The socioeconomic aspects of nonalcoholic fatty liver disease: food insecurity as a novel risk factor for steatosis and liver fibrosis. *Hepatobiliary*

Surgery And Nutrition, [S.L.], v. 9, n. 4, p. 543-545, ago. 2020. AME Publishing Company. <http://dx.doi.org/10.21037/hbsn.2020.03.03>.

GEWEHR, Mayara C. F.; TEIXEIRA, Alexandre A. S.; SANTOS, Bruna A. C.; BIONDO, Luana A.; GOZZO, Fábio C.; CORDIBELLO, Amanda M.; EICHLER, Rosangela A. S.; RECKZIEGEL, Patrícia; SILVA, Renée N. O. da; SANTOS, Nilton B. dos. The Relevance of Thimet Oligopeptidase in the Regulation of Energy Metabolism and Diet-Induced Obesity. *Biomolecules*, [s.l.], v. 10, n. 2, p.321-361, 17 fev. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/biom10020321>.

GHETTI, Fabiana de Faria; OLIVEIRA, Daiane Gonçalves; OLIVEIRA, Juliano Machado de; FERREIRA, Lincoln Eduardo Villela Vieira de Castro; CESAR, Dionéia Evangelista; MOREIRA, Ana Paula Boroni. Influence of gut microbiota on the development and progression of nonalcoholic steatohepatitis. *European Journal Of Nutrition*, [S.L.], v. 57, n. 3, p. 861-876, 5 set. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00394-017-1524-x>.

GHOSHAL-GUPTA, Sampa; KUTIYANAWALLA, Ammar; LEE, Byung Rho; OJHA, Juhi; NURANI, Aliya; MONDAL, Ashis K.; KOLHE, Ravindra; ROJIANI, Aryn M.; ROJIANI, Mumtaz V.. TIMP-1 downregulation modulates miR-125a-5p expression and triggers the apoptotic pathway. *Oncotarget*, [S.L.], v. 9, n. 10, p. 8941-8956, 2 jan. 2018. Impact Journals, LLC. <http://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.23832>.

GIOLI-PEREIRA, Luciana et al. Localization of EP24.15, a Major Liver Kininase. *Journal Of Histochemistry & Cytochemistry*, [s.l.], v. 51, n. 1, p.125-127, jan. 2003. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/002215540305100115>.

GIULIANO, Michela; PELLERITO, Ornella; PORTANOVA, Patrizia; CALVARUSO, Giuseppe; SANTULLI, Andrea; BLASIO, Anna de; VENTO, Renza; TESORIERE, Giovanni. Apoptosis induced in HepG2 cells by the synthetic cannabinoid WIN: involvement of the transcription factor ppar γ . *Biochimie*, [S.L.], v. 91, n. 4, p. 457-465, abr. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2008.11.003>.

GJORGJIEVA, Monika; SOBOLEWSKI, Cyril; DOLICKA, Dobrochna; SOUSA, Marta Correia de; FOTI, Michelangelo. MiRNAs and NAFLD: from pathophysiology to therapy. *Gut*, [S.L.], v. 68, n. 11, p. 2065-2079, 12 jul. 2019. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2018-318146>.

GOLOVATY, Ilya; TIEN, Phyllis C; PRICE, Jennifer C; SHEIRA, Lila; SELIGMAN, Hilary; WEISER, Sheri D. Food Insecurity May Be an Independent Risk Factor Associated with Nonalcoholic Fatty Liver Disease among Low-Income Adults in the United States. *The Journal Of Nutrition*, [S.L.], v. 150, n. 1, p. 91-98, 10 set. 2019. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jn/nxz212>.

HEIMANN, A. S.; FAVARATO, M. H.; GOZZO, F. C.; RIOLI, V.; CARREÑO, F. R.; EBERLIN, M. N.; FERRO, E. S.; KREGE, J. H.; KRIEGER, J. E.. ACE gene titration in mice uncovers a new mechanism for ACE on the control of body weight. *Physiological Genomics*, [S.L.], v. 20, n. 2, p. 173-182, 20 jan. 2005. American Physiological Society. <http://dx.doi.org/10.1152/physiolgenomics.00145.2004>.

HEIMANN, A. S.; GOMES, I.; DALE, C. S.; PAGANO, R. L.; GUPTA, A.; SOUZA, L. L. de; LUCHESSI, A. D.; CASTRO, L. M.; GIORGI, R.; RIOLI, V.. Hemopressin is an inverse agonist of CB1 cannabinoid receptors. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 104, n. 51, p. 20588-20593, 12 dez. 2007. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0706980105>.

HENDERSON, Neil C.; RIEDER, Florian; WYNN, Thomas A.. Fibrosis: from mechanisms to medicines. *Nature*, [S.L.], v. 587, n. 7835, p. 555-566, 25 nov. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2938-9>.

HIGASHI, Takaaki; FRIEDMAN, Scott L.; HOSHIDA, Yujin. Hepatic stellate cells as key target in liver fibrosis. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.L.], v. 121, p. 27-42, nov. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2017.05.007>.

HONG, Yuehui; ZHOU, Yuting; WANG, Ying; XIAO, Shunhua; LIAO, D. Joshua; ZHAO, Qing. PPAR γ mediates the effects of WIN55,212-2, an synthetic cannabinoid, on the proliferation and apoptosis of the BEL-7402 hepatocarcinoma cells. *Molecular Biology Reports*, [S.L.], v. 40, n. 11, p. 6287-6293, 24 set. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11033-013-2741-x>.

ICIMOTO, Marcelo Y. et al. Redox modulation of thimet oligopeptidase activity by hydrogen peroxide. *Febs Open Bio*, [s.l.], v. 7, n. 7, p.1037-1050, 19 jun. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/2211-5463.12245>.

JIANG, Xue-Ping; AI, Wen-Bing; WAN, Lin-Yan; ZHANG, Yan-Qiong; WU, Jiang-Feng. The roles of microRNA families in hepatic fibrosis. *Cell & Bioscience*, [S.L.], v. 7, n. 1, 4 jul. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13578-017-0161-7>.

KAWAGUCHI, Takahisa; SUMIDA, Yoshio; UMEMURA, Atsushi; MATSUO, Keitaro; TAKAHASHI, Meiko; TAKAMURA, Toshinari; YASUI, Kohichiroh; SAIBARA, Toshiji; HASHIMOTO, Etsuko; KAWANAKA, Miwa. Genetic Polymorphisms of the Human PNPLA3 Gene Are Strongly Associated with Severity of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Japanese. *Plos One*, [S.L.], v. 7, n. 6, 14 jun. 2012. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0038322>.

KIM, Donghee; LI, Andrew A.; GADIPARTHI, Chiranjeevi; KHAN, Muhammad Ali; CHOLANKERIL, George; GLENN, Jeffrey S.; AHMED, Aijaz. Changing Trends in Etiology-Based Annual Mortality From Chronic Liver Disease, From 2007 Through 2016. *Gastroenterology*, [S.L.], v. 155, n. 4, p. 1154-1163, out. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2018.07.008>.

KIM, Sung Min; CHOI, Jung Eun; HUR, Wonhee; KIM, Jung-hee; HONG, Sung Woo; LEE, Eun Byul; LEE, Joon Ho; LI, Tian Zhu; SUNG, Pil Soo; YOON, Seung Kew. RAR-Related Orphan Receptor Gamma (ROR- γ) Mediates Epithelial-Mesenchymal Transition Of Hepatocytes During Hepatic Fibrosis. *Journal Of Cellular Biochemistry*, [s.l.], v. 118, n. 8, p. 2026-2036, 27 abr. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jcb.25776>.

KIRPICH, Irina A.; MARSANO, Luis S.; MCCLAIN, Craig J.. Gut–liver axis, nutrition, and non-alcoholic fatty liver disease. *Clinical Biochemistry*, [S.L.], v. 48, n. 13-14, p. 923-930, set. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2015.06.023>.

LEE, Yoon Kwang; PARK, Jung Eun; LEE, Mikang; HARDWICK, James P. Hepatic lipid homeostasis by peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2. *Liver Research*, [S.I.], v. 2, p. 209-215, dez. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.livres.2018.12.001>

LI, Xiaofei; CHEN, Yongxin; WU, Shuang; HE, Jinke; LOU, Lianqing; YE, Weiwei; WANG, Jinhe. MicroRNA-34a and microRNA-34c promote the activation of human

hepatic stellate cells by targeting peroxisome proliferator-activated receptor γ . *Molecular Medicine Reports*, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 1017-1024, 3 nov. 2014. Spandidos Publications. <http://dx.doi.org/10.3892/mmr.2014.2846>.

LIANG, Qionghe; CHEN, Huan; XU, Xiaoqun; JIANG, Weiwei. MiR-182-5p Attenuates High-Fat -Diet-Induced Nonalcoholic Steatohepatitis in Mice. *Annals Of Hepatology*, [s.l.], v. 18, n. 1, p.116-125, jan. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.5604/01.3001.0012.7902>.

LIANG, Wen et al. Establishment of a General NAFLD Scoring System for Rodent Models and Comparison to Human Liver Pathology. *Plos One*, [s.l.], v. 9, n. 12, p.115922, 23 dez. 2014. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0115922>.

LIN, Hung-yu; WANG, Feng-sheng; YANG, Ya-ling; HUANG, Ying-hsien. MicroRNA-29a Suppresses CD36 to Ameliorate High Fat Diet-Induced Steatohepatitis and Liver Fibrosis in Mice. *Cells*, [s.l.], v. 8, n. 10, p.1298, 22 out. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cells8101298>.

LISS, Kim H.h.; FINCK, Brian N.. PPARs and nonalcoholic fatty liver disease. *Biochimie*, [s.l.], v. 136, p.65-74, maio 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2016.11.009>.

LIU, Jie et al. A circulating microRNA signature as noninvasive diagnostic and prognostic biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis. *Bmc Genomics*, [s.l.], v. 19, n. 1, p.0-0, 9 mar. 2018. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/s12864-018-4575-3>.

LIU, Xiao-lin; PAN, Qin; CAO, Hai-xia; XIN, Feng-zhi; ZHAO, Ze-hua; YANG, Rui-xu; ZENG, Jing; ZHOU, Huiping; FAN, Jian-gao. Lipotoxic Hepatocyte-Derived Exosomal miR-192-5p Activates Macrophages via Rictor/Akt/FoxO1 Signaling in NAFLD. *Hepatology*, [s.l.], 28 nov. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.31050>.

LYONS, Peter J.; FRICKER, Lloyd D.. Peptidomic Approaches to Study Proteolytic Activity. *Current Protocols In Protein Science*, [s.l.], p.18131-181312, ago. 2011. John Wiley & Sons, Inc.. <http://dx.doi.org/10.1002/0471140864.ps1813s65>.

MARÉCHAL, Loïze; LAVIOLETTE, Maximilien; RODRIGUE-WAY, Amélie; SOW, Baly; BROCHU, Michèle; CARON, Véronique; TREMBLAY, André. The CD36-PPAR γ Pathway in Metabolic Disorders. *International Journal Of Molecular Sciences*, [S.L.], v. 19, n. 5, p. 1529, 21 maio 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms19051529>.

MARÍ, Montserrat; CABALLERO, Francisco; COLELL, Anna; MORALES, Albert; CABALLERIA, Juan; FERNANDEZ, Anna; ENRICH, Carlos; FERNANDEZ-CHECA, José C.; GARCÍA-RUIZ, Carmen. Mitochondrial free cholesterol loading sensitizes to TNF- and Fas-mediated steatohepatitis. *Cell Metabolism*, [S.L.], v. 4, n. 3, p. 185-198, set. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2006.07.006>.

MATSUMOTO, Masahiko et al. An improved mouse model that rapidly develops fibrosis in non-alcoholic steatohepatitis. *International Journal Of Experimental Pathology*, [s.l.], v. 94, n. 2, p.93-103, 11 jan. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/iep.12008>.

MIURA, Kouichi. Role of gut microbiota and Toll-like receptors in nonalcoholic fatty liver disease. *World Journal Of Gastroenterology*, [S.L.], v. 20, n. 23, p. 7381, 2014. Baishideng Publishing Group Inc.. <http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v20.i23.7381>.

MORÁN-SALVADOR, Eva; LÓPEZ-PARRA, Marta; GARCÍA-ALONSO, Verónica; TITOS, Esther; MARTÍNEZ-CLEMENTE, Marcos; GONZÁLEZ-PÉRIZ, Ana; LÓPEZ-VICARIO, Cristina; BARAK, Yaacov; ARROYO, Vicente; CLÀRIA, Joan. Role for PPAR γ in obesity-induced hepatic steatosis as determined by hepatocyte- and macrophage-specific conditional knockouts. *The Faseb Journal*, [s.l.], v. 25, n. 8, p. 2538-2550, 19 abr. 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1096/fj.10-173716>.

NOMOTO, Shuji et al. Expression Analysis of THOP1 in Background Liver, a Prognostic Predictive Factor in Hepatocellular Carcinoma, Extracted by Multiarray Analysis. *Annals Of Surgical Oncology*, [s.l.], v. 21, n. 3, p.443-450, 7 mar. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1245/s10434-014-3581-1>.

OSEI-HYIAMAN, Douglas; LIU, Jie; ZHOU, Liang; GODLEWSKI, Grzegorz; HARVEY-WHITE, Judith; JEONG, Won-Il; BÁTKAI, Sándor; MARSICANO, Giovanni; LUTZ, Beat; BUETTNER, Christoph. Hepatic CB1 receptor is required for

development of diet-induced steatosis, dyslipidemia, and insulin and leptin resistance in mice. **Journal Of Clinical Investigation**, [S.L.], v. 118, n. 9, p. 3160-3169, 2 set. 2008. American Society for Clinical Investigation. <http://dx.doi.org/10.1172/jci34827>.

PAI, Jaeyoung et al. Screening of Pre-miRNA-155 Binding Peptides for Apoptosis Inducing Activity Using Peptide Microarrays. *Journal Of The American Chemical Society*, [s.l.], v. 138, n. 3, p.857-867, 15 jan. 2016. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jacs.5b09216>.

PIROLA, Carlos J et al. Circulating microRNA signature in non-alcoholic fatty liver disease: from serum non-coding RNAs to liver histology and disease pathogenesis. *Gut*, [s.l.], v. 64, n. 5, p.800-812, 27 jun. 2014. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2014-306996>.

POGRIBNY, Igor P; STARLARD-DAVENPORT, Athena; TRYNDYAK, Volodymyr P; HAN, Tao; A ROSS, Sharon; RUSYN, Ivan; A BELAND, Frederick. Difference in expression of hepatic microRNAs miR-29c, miR-34a, miR-155, and miR-200b is associated with strain-specific susceptibility to dietary nonalcoholic steatohepatitis in mice. *Laboratory Investigation*, [S.L.], v. 90, n. 10, p. 1437-1446, 14 jun. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/labinvest.2010.113>.

POLYZOS, Stergios A.; KOUNTOURAS, Jannis; MANTZOROS, Christos S.. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: from pathophysiology to therapeutics. **Metabolism**, [S.L.], v. 92, p. 82-97, mar. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2018.11.014>.

PORTIUS, Dorothea; SOBOLEWSKI, Cyril; FOTI, Michelangelo. MicroRNAs-Dependent Regulation of PPARs in Metabolic Diseases and Cancers. *Ppar Research*, [s.l.], v. 2017, p.1-19, 2017. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2017/7058424>.

PUPPALA, Sobha; LI, Cun; GLENN, Jeremy P.; SAXENA, Romil; GAWRIEH, Samer; QUINN, Amy; PALARCZYK, Jennifer; DICK, Edward J.; NATHANIELSZ, Peter W.; COX, Laura A.. Primate fetal hepatic responses to maternal obesity: epigenetic signalling pathways and lipid accumulation. **The Journal Of Physiology**, [S.L.], v. 596, n. 3, p. 5823-5837, 6 abr. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1113/jp275422>.

QIN, Yu-E; DUAN, Li; HE, Yumin; YUAN, Chengfu; WANG, Ting; YUAN, Ding; ZHANG, Changcheng; LIU, Chaoqi. Saturated Fatty Acids Promote Hepatocytic Senescence through Regulation of miR-34a/Cyclin-Dependent Kinase 6. *Molecular Nutrition & Food Research*, [S.L.], v. 64, n. 23, p. 2000383-2000383, 9 nov. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.202000383>.

RADA, Patricia; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, Águeda; GARCÍA-MONZÓN, Carmelo; VALVERDE, Ángela M.. Understanding lipotoxicity in NAFLD pathogenesis: is cd36 a key driver?. *Cell Death & Disease*, [S.L.], v. 11, n. 9, p. 1-15, set. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41419-020-03003-w>.

RAUBENHEIMER, P. J.; NYIRENDA, M. J.; WALKER, B. R.. A Choline-Deficient Diet Exacerbates Fatty Liver but Attenuates Insulin Resistance and Glucose Intolerance in Mice Fed a High-Fat Diet. *Diabetes*, [s.l.], v. 55, n. 7, p.2015-2020, 27 jun. 2006. American Diabetes Association. <http://dx.doi.org/10.2337/db06-0097>.

RAY, Kallol et al. Crystal Structure of Human Thimet Oligopeptidase Provides Insight into Substrate Recognition, Regulation, and Localization. *Journal Of Biological Chemistry*, [s.l.], v. 279, n. 19, p.20480-20489, 3 mar. 2004. American Society for Biochemistry & Molecular Biology (ASBMB). <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m400795200>.

RIOLI, Vanessa; GOZZO, Fabio C.; HEIMANN, Andrea S.; LINARDI, Alessandra; KRIEGER, José E.; SHIDA, Cláudio S.; ALMEIDA, Paulo C.; HYSLOP, Stephen; EBERLIN, Marcos N.; FERRO, Emer S.. Novel Natural Peptide Substrates for Endopeptidase 24.15, Neurolysin, and Angiotensin-converting Enzyme. *Journal Of Biological Chemistry*, [S.L.], v. 278, n. 10, p. 8547-8555, mar. 2003. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m212030200>.

ROTMAN, Yaron; KOH, Christopher; ZMUDA, Joseph M.; KLEINER, David E.; LIANG, T. Jake. The association of genetic variability in patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 (PNPLA3) with histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, [S.L.], v. 52, n. 3, p. 894-903, 14 maio 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.23759>.

ROTTIERS, Veerle; NÄÄR, Anders M.. MicroRNAs in metabolism and metabolic disorders. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, [S.L.], v. 13, n. 4, p. 239-250, 22 mar. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrm3313>.

RUSSO, Lilian C. et al. Inhibition of thimet oligopeptidase by siRNA alters specific intracellular peptides and potentiates isoproterenol signal transduction. *Febs Letters*, [s.l.], v. 586, n. 19, p.3287-3292, 10 jul. 2012. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1016/j.febslet.2012.07.002>.

SANTIAGO-ROLÓN, Amarilys et al. A Comparison of Brunt Criteria, the Non Alcoholic Fatty Liver Disease Activity Score (NAS) & a Proposed NAS-including fibrosis as Valid Diagnostic Scores for NASH. *P R Health*, San Juan, v. 4, n. 34, p. 189-194, dez. 2015.

SANTOS, Nilton dos; FRANCO, Roseane; CAMARINI, Rosana; MUNHOZ, Carolina; EICHLER, Rosangela; GEWEHR, Mayara; RECKZIEGEL, Patricia; LLANOS, Ricardo; DALE, Camila; SILVA, Victoria da. Thimet Oligopeptidase (EC 3.4.24.15) Key Functions Suggested by Knockout Mice Phenotype Characterization. *Biomolecules*, [S.L.], v. 9, n. 8, p. 382-382, 19 ago. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/biom9080382>.

SANYAL, Arun J.. Past, present and future perspectives in nonalcoholic fatty liver disease. ***Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology***, [S.L.], v. 16, n. 6, p. 377-386, 25 abr. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41575-019-0144-8>.

SARIC, Tomo; GRAEF, Claudia I.; GOLDBERG, Alfred L.. Pathway for Degradation of Peptides Generated by Proteasomes. *Journal Of Biological Chemistry*, [s.l.], v. 279, n. 45, p.46723-46732, 24 ago. 2004. American Society for Biochemistry & Molecular Biology (ASBMB). <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m406537200>.

Shahar Azar, Shiran Udi, Adi Drori, Rivka Hadar, Alina Nemirovski, Kiran V. Vemuri, Maya Miller, Dana Sherill-Rofe, Yhara Arad, Devorah Gur-Wahnon, Xiaoling Li, Alexandros Makriyannis, Danny Ben-Zvi, Yuval Tabach, Iddo Z. Ben-Dov, Joseph Tam. Reversal of diet-induced hepatic steatosis by peripheral CB1 receptor blockade

in mice is p53/miRNA-22/SIRT1/PPAR α dependent, *Molecular Metabolism*, Volume 42, 2020, 101087, ISSN 2212-8778, <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2020.101087>.

SHIMIZU, Dai et al. Search for useful biomarkers in hepatocellular carcinoma, tumor factors and background liver factors. *Oncology Reports*, [s.l.], v. 37, n. 5, p.2527-2542, 31 mar. 2017. Spandidos Publications. <http://dx.doi.org/10.3892/or.2017.5541>.

SHORTRIDGE, Matthew D. et al. A Macrocyclic Peptide Ligand Binds the Oncogenic MicroRNA-21 Precursor and Suppresses Dicer Processing. *ACS Chemical Biology*, [s.l.], v. 12, n. 6, p.1611-1620, 2 maio 2017. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acscchembio.7b00180>.

SILVA, Celio L.; PORTARO, Fernanda C.V.; BONATO, Vânia L.D.; CAMARGO, Antonio C.M. de; FERRO, Emer S.. Thimet Oligopeptidase (EC 3.4.24.15), a Novel Protein on the Route of MHC Class I Antigen Presentation. *Biochemical And Biophysical Research Communications*, [S.L.], v. 255, n. 3, p. 591-595, fev. 1999. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1006/bbrc.1999.0250>.

SIMÕES, Inês C.M.; FONTES, Adriana; PINTON, Paolo; ZISCHKA, Hans; WIECKOWSKI, Mariusz R.. Mitochondria in non-alcoholic fatty liver disease. *The International Journal Of Biochemistry & Cell Biology*, [S.L.], v. 95, p. 93-99, fev. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2017.12.019>.

SIVELL, Christopher. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. ***Gastroenterology Nursing***, [S.L.], v. 42, n. 5, p. 428-434, 2019. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/sga.0000000000000443>.

SKAT-RØRDAM, Josephine; IPSEN, David Højland; LYKKESFELDT, Jens; TVEDEN-NYBORG, Pernille. A role of peroxisome proliferator-activated receptor γ in non-alcoholic fatty liver disease. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, [s.l.], v. 124, n. 5, p. 528-537, 22 jan. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/bcpt.13190>.

SUNDSTROM, Jeffrey M.; HERNÁNDEZ, Cristina; WEBER, Sarah R.; ZHAO, Yuanjun; DUNKLEBARGER, Mitchell; TIBERTI, Natalia; LAREMORE, Tatiana; SIMÓ-SERVAT, Olga; GARCIA-RAMIREZ, Marta; BARBER, Alistair J.. Proteomic Analysis of Early Diabetic Retinopathy Reveals Mediators of Neurodegenerative

Brain Diseases. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, [S.L.], v. 59, n. 6, p. 2264, 4 maio 2018. Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO). <http://dx.doi.org/10.1167/iovs.17-23678>.

SWEFY, Sahar El; HASAN, Rehab A.; IBRAHIM, Amal; MAHMOUD, Mona F.. Curcumin and hemopressin treatment attenuates cholestasis-induced liver fibrosis in rats: role of cb1 receptors. *Naunyn-Schmiedeberg'S Archives Of Pharmacology*, [S.L.], v. 389, n. 1, p. 103-116, 16 out. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00210-015-1181-7>.

SZABO, Gyongyi; BALA, Shashi. MicroRNAs in liver disease. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, [s.l.], v. 10, n. 9, p.542-552, 21 maio 2013. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nrgastro.2013.87>.

TARASOV, Valery; JUNG, Peter; VERDOODT, Berlinda; LODYGIN, Dmitri; EPANCHINTSEV, Alexey; MENSSEN, Antje; MEISTER, Gunter; HERMEKING, Heiko. Differential Regulation of microRNAs by p53 Revealed by Massively Parallel Sequencing: mir-34a is a p53 target that induces apoptosis and g1-arrest. *Cell Cycle*, [S.L.], v. 6, n. 13, p. 1586-1593, jul. 2007. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.4161/cc.6.13.4436>.

TEODORO, João S.; ROLO, Anabela P.; DUARTE, Filipe V.; SIMÕES, Anabela M.; PALMEIRA, Carlos M.. Differential alterations in mitochondrial function induced by a choline-deficient diet: understanding fatty liver disease progression. *Mitochondrion*, [S.L.], v. 8, n. 5-6, p. 367-376, dez. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mito.2008.07.008>.

TESSITORE, Alessandra; CICCARELLI, Germana; VECCHIO, Filippo del; GAGGIANO, Agata; VERZELLA, Daniela; FISCHIETTI, Mariafausta; MASTROIACO, Valentina; VETUSCHI, Antonella; SFERRA, Roberta; BARNABEI, Remo. MicroRNA expression analysis in high fat diet-induced NAFLD-NASH-HCC progression: study on C57BL/6J mice. *Bmc Cancer*, [s.l.], v. 16, n. 1, p.1-1, 5 jan. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12885-015-2007-1>.

TIAN, Xiao-Feng; JI, Fu-Jian; ZANG, Hong-Liang; CAO, Hong. Activation of the miR-34a/SIRT1/p53 Signaling Pathway Contributes to the Progress of Liver Fibrosis via Inducing Apoptosis in Hepatocytes but Not in HSCs. *Plos One*, [S.L.], v. 11, n. 7,

7 jul. 2016. Public Library of Science (PLoS).
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0158657>.

TIBURCIO, Taynã Cristina et al. Connexin32 deficiency is associated with liver injury, inflammation and oxidative stress in experimental non-alcoholic steatohepatitis. *Clinical And Experimental Pharmacology And Physiology*, [s.l.], v. 44, n. 2, p.197-206, 24 jan. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1440-1681.12701>.

TILG, Herbert; MOSCHEN, Alexander R.. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: The multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology*, [s.l.], v. 52, n. 5, p.1836-1846, 29 out. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.24001>.

TILG, Herbert; ADOLPH, Timon E.; MOSCHEN, Alexander R.. Multiple Parallel Hits Hypothesis in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: revisited after a decade. *Hepatology*, [S.L.], v. 73, n. 2, p. 833-842, fev. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.31518>.

THAN, Nwe Ni; NEWSOME, Philip N.. A concise review of non-alcoholic fatty liver disease. *Atherosclerosis*, [s.l.], v. 239, n. 1, p.192-202, mar. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.01.001>.

THIELE, Nina D.; WIRTH, Jan W.; STEINS, David; KOOP, Anja C.; ITTRICH, Harald; LOHSE, Ansgar W.; KLUWE, Johannes. TIMP-1 is upregulated, but not essential in hepatic fibrogenesis and carcinogenesis in mice. *Scientific Reports*, [S.L.], v. 7, n. 1, 6 abr. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-00671-1>.

TOENNES, Stefan W.; WAGNER, Moritz G.; KAUERT, Gerold F.. Application of LC–TOF MS to analysis of hemoglobin acetaldehyde adducts in alcohol detoxification patients. *Analytical And Bioanalytical Chemistry*, [S.L.], v. 398, n. 2, p. 769-777, 4 jul. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-010-3931-1>.

VAN HERCK, Mikhaïl A.; WEYLER, Jonas; KWANTEN, Wilhelmus J.; DIRINCK, Eveline L.; WINTER, Benedicte Y. de; FRANcqUE, Sven M.; VONGHIA, Luisa. The Differential Roles of T Cells in Non-alcoholic Fatty Liver Disease and Obesity. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 10, 6 fev. 2019. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2019.00082>.

WANG, Yuhui; VISCARRA, Jose; KIM, Sun-joong; SUL, Hei Sook. Transcriptional regulation of hepatic lipogenesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, [s.l.], v. 16, n. 11, p. 678-689, 22 out. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrm4074>.

WILSON, Camella G.; TRAN, Jennifer L.; ERION, Derek M.; VERA, Nicholas B.; FEBBRAIO, Maria; WEISS, Ethan J.. Hepatocyte-Specific Disruption of CD36 Attenuates Fatty Liver and Improves Insulin Sensitivity in HFD-Fed Mice. *Endocrinology*, [s.l.], v. 157, n. 2, p. 570-585, fev. 2016. The Endocrine Society. <http://dx.doi.org/10.1210/en.2015-1866>.

XIAO, Junjie et al. MiR-212 downregulation contributes to the protective effect of exercise against non-alcoholic fatty liver via targeting FGF-21. *Journal Of Cellular And Molecular Medicine*, [s.l.], v. 20, n. 2, p.204-216, 9 dez. 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jcmm.12733>.

XIAO, Junjie et al. MiR-149 controls non-alcoholic fatty liver by targeting FGF-21. *Journal Of Cellular And Molecular Medicine*, [s.l.], v. 20, n. 8, p.1603-1608, 6 abr. 2016b. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jcmm.12848>.

XU, Yang; ZALZALA, Munaf; XU, Jiesi; LI, Yuanyuan; YIN, Liya; ZHANG, Yanqiao. A metabolic stress-inducible miR-34a-HNF4 α pathway regulates lipid and lipoprotein metabolism. *Nature Communications*, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 1-11, 23 jun. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms8466>.

XU, Fen; GUO, Wanrong. The progress of epigenetics in the development and progression of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Research*, [S.L.], v. 4, n. 3, p. 118-123, set. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livres.2020.08.003>.

YILMAZ, Y.. Review article: is non-alcoholic fatty liver disease a spectrum, or are steatosis and non-alcoholic steatohepatitis distinct conditions?. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, [S.L.], v. 36, n. 9, p. 815-823, 11 set. 2012. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/apt.12046>.

YAN, Gangli; LI, Binbin; XIN, Xuan; XU, Midie; JI, Guoqing; YU, Hongyu. MicroRNA-34a Promotes Hepatic Stellate Cell Activation via Targeting ACSL1.

Medical Science Monitor, [S.L.], v. 21, p. 3008-3015, 2015. International Scientific Information, Inc.. <http://dx.doi.org/10.12659/msm.894000>.

YOUNOSSI, Zobair et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, [s.l.], v. 15, n. 1, p.11-20, 20 set. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrgastro.2017.109>.

YOUNOSSI, Zobair et al. Global Perspectives on Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis. *Hepatology*, [s.l.], v. 69, n. 6, p.2672-2682, 29 maio 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.30251>.

YU, Jingwei; PENG, Jun; LUAN, Zhilin; ZHENG, Feng; SU, Wen. MicroRNAs as a Novel Tool in the Diagnosis of Liver Lipid Dysregulation and Fatty Liver Disease. *Molecules*, [s.l.], v. 24, n. 2, p.230, 9 jan. 2019. MDPI AG.

ZAHRAN, Walid E.; EL-DIEN, Kholoud A. Salah; KAMEL, Philip G.; EL-SAWABY, Ahmed Shawky. Efficacy of Tumor Necrosis Factor and Interleukin-10 Analysis in the Follow-up of Nonalcoholic Fatty Liver Disease Progression. *Indian Journal Of Clinical Biochemistry*, [s.l.], v. 28, n. 2, p.141-146, 14 jul. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12291-012-0236-5>.

ZEISEL, Steven H; KLATT, Kevin C; A CAUDILL, Marie. Choline. *Advances In Nutrition*, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 58-60, 1 jan. 2018. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/advances/nmx004>.

ZHANG, Qiqi et al. MicroRNA-149* suppresses hepatic inflammatory response through antagonizing STAT3 signaling pathway. *Oncotarget*, [s.l.], v. 8, n. 39, 17 jun. 2017. Impact Journals, LLC. <http://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.18541>.

ZHANG, Yuxiang; PAPAZYAN, Romeo; DAMLE, Manashree; FANG, Bin; JAGER, Jennifer; FENG, Dan; PEED, Lindsey C.; GUAN, Dongyin; SUN, Zheng; LAZAR, Mitchell A.. The hepatic circadian clock fine-tunes the lipogenic response to feeding through ROR α / γ . *Genes & Development*, [s.l.], v. 31, n. 12, p. 1202-1211, 15 jun. 2017. Cold Spring Harbor Laboratory. <http://dx.doi.org/10.1101/gad.302323.117>.

