

**CAMILA STEPHANIE BALBINO SILVA**

**IMPACTO DO MICRORNA-22 NA REATIVIDADE VASCULAR DA AORTA  
DE CAMUNDONGOS OBESOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Sistemas na área de concentração em Biologia Morfofuncional do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

**São Paulo**

**2021**

**CAMILA STEPHANIE BALBINO SILVA**

**IMPACTO DO MICRORNA-22 NA REATIVIDADE VASCULAR DA AORTA  
DE CAMUNDONGOS OBESOS**

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

Área de concentração: Biologia Morfofuncional

Orientadora: Prof(a). Dr(a). Gabriela Placoná Diniz

Coorientadora: Prof(a). Dr(a). Luciana Venturini Rossoni

Sede: Laboratório de Biologia Celular e Anatomia Funcional.

**São Paulo**

**2021**

## RESUMO

Balbino Silva, C.S. **Impacto do microRNA-22 na reatividade vascular da aorta de camundongos obesos**. 2021. 92 f. Dissertação de Mestrado (Programa em Biologia de Sistemas – Biologia Morfofuncional) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

O acúmulo de tecido adiposo observado no sobrepeso e na obesidade promove alterações nos vasos sanguíneos levando ao comprometimento da função vascular. Os vasos sanguíneos são circundados pelo tecido adiposo perivascular (PVAT), o qual exerce um importante papel na regulação local do tônus vascular ao se contrapor a estímulos contráteis. Fisiologicamente, o PVAT produz e libera diversas moléculas vasoativas como adipocinas, miRNAs e óxido nítrico, sendo que o desbalanço desses fatores pode estar diretamente relacionado com a disfunção vascular observada em indivíduos obesos. Estudos recentes evidenciaram que o miRNA-22 (miR-22) aumenta a expressão de citocinas pró-inflamatórias em células endoteliais e reduz o estado proliferativo das células do músculo liso vascular. Além disso, um trabalho anterior do nosso laboratório demonstrou que a deleção do miR-22 atenuou o aumento da expressão de genes inflamatórios no tecido adiposo branco em camundongos obesos. Apesar desses achados, até o momento não se sabe qual o papel do miR-22 na reatividade vascular, bem como a influência do PVAT nessa resposta. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi investigar o papel do miR-22 na reatividade vascular da aorta torácica e na função exercida pelo PVAT. Para isso, camundongos WT e KO para o miR-22 foram tratados com dietas controle ou rica em gordura por 16 semanas. Observamos que a ausência do miR-22 promoveu redução da contração à noradrenalina, por meio de um mecanismo dependente da NOS, e perda do efeito anticontrátil do PVAT, o qual foi acompanhado por aumento da formação de adutos de 4-HNE, indicando um possível estresse oxidativo neste tecido. Além disso, o modelo utilizado para indução da obesidade foi eficaz, uma vez que os animais alimentados com a dieta rica em gordura apresentaram aumento da adiposidade, resistência à insulina, intolerância à glicose e redução da contração à noradrenalina e do efeito anticontrátil do PVAT mediado pela NOS. Por fim, observamos que o PVAT de camundongos KO para o miR-22

tratados com dieta rica em gordura apresentou um aumento da expressão de nNOS, redução da ativação de eNOS e melhora no efeito anticontrátil do PVAT induzido pela NOS. Dessa forma, o conjunto desses dados indica que o miR-22 é importante para a manutenção da função vascular, no entanto, análises moleculares adicionais são necessárias para entender os mecanismos envolvidos no efeito promovido pela deleção do miR-22 e pela dieta rica em gordura no PVAT.

**Palavras-chave:** miRNA-22. PVAT. Reatividade vascular. Aorta. Obesidade.

## ABSTRACT

Balbino Silva, C.S. **Impact of miRNA-22 in vascular reactivity of aorta in obese mice.** 2021. 92 f. Masters thesis (Life Systems Biology - Morphofunctional Biology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

The adipose tissue accumulation observed in overweight and obesity promotes changes in the blood vessels, leading to impaired vascular function. Blood vessels are surrounded by perivascular adipose tissue (PVAT), which plays an important role in the local regulation of vascular tone by opposing contractile stimuli. Physiologically, PVAT produces and releases several vasoactive molecules such as adipokines, miRNAs, and nitric oxide. The imbalance of these factors may be related to the vascular dysfunction observed in obese individuals. Recent studies have evidenced that miRNA-22 (miR-22) increases pro-inflammatory cytokine expression in endothelial cells, and reduces the proliferative state of vascular smooth muscle cells. Previous works from our laboratory demonstrated that the miR-22 deletion attenuated the increase in the expression of inflammatory genes in the white adipose tissue of obese mice. Despite these findings, the function of miR-22 in vascular reactivity as well as in the influence of PVAT on this response is unknown. Thus, the aim of this work was to investigate the role of miR-22 in thoracic aortic vascular reactivity and PVAT function. WT and KO mice for miR-22 were fed a control or high-fat diet for 16 weeks. We observed that the absence of miR-22 reduced the contraction to noradrenaline, via a NOS-dependent mechanism, and loss of the PVAT anti contractile effect with an increase in the formation of 4-HNE, indicating a possible oxidative stress in this tissue. Furthermore, the model used for inducing obesity was effective, since mice fed a high-fat diet showed increased adiposity, insulin resistance, glucose intolerance, and reduced contraction to noradrenaline and NOS-mediated anticontractile effect of PVAT. Finally, we observed that PVAT from KO mice for miR-22 fed a high-fat diet presented increased expression of nNOS, reduced activation of eNOS and improved NOS-induced PVAT anticontractile effect. Thus, the data indicate that miR-22 is important for maintaining vascular function, but further molecular analyses are

required to understand the mechanisms involved in the effect promoted by the miR-22 deletion and the high-fat diet on PVAT.

Keywords: miRNA-22. PVAT. Vascular reactivity. Aorta. Obesity.

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1. Obesidade e o impacto na saúde**

Nos últimos anos, com o avanço da tecnologia, a população tem alterado seu estilo de vida. Esta mudança está diretamente associada à ingestão de alimentos altamente calóricos e ao aumento da inatividade física provocando, portanto, desbalanço entre consumo e gasto energético (AHIMA, 2011; MURRAY et al., 2019). Por consequência, este comportamento tem levado ao aumento da incidência de doenças crônicas, como a obesidade (FINUCANE et al., 2011; WHO, 2021). Segundo a Organização Mundial da Saúde, em 2016, 39% da população mundial estava acima do peso e 13% apresentava-se obesa (WHO, 2021). Contudo, no Brasil calcula-se que 55% da população está acima do peso, sendo aproximadamente 20% obesos (VIGITEL, 2019). Essa tendência crescente na incidência de obesidade observada no Brasil e no mundo coloca a obesidade como uma questão relevante para estratégias de saúde pública que não só afeta a qualidade de vida do indivíduo como também oferece um impacto econômico expressivo (CAWLEY, 2015; LEHNERT, 2013).

A obesidade é uma condição patológica de origem multifatorial que se estabelece de forma crônica e que tem como principal característica o excesso de gordura no organismo (KOPELMAN, 2000). O acúmulo de tecido adiposo observado na obesidade está associado ao desenvolvimento de diversas condições fisiopatológicas como dislipidemia, resistência à insulina, osteoartrite, problemas respiratórios e alguns tipos de câncer (KOPELMAN, 2000; FLEGAL et al., 2005). Além disso, estudos epidemiológicos indicam que a obesidade é o principal fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, as quais prejudicam o funcionamento do sistema cardiovascular e, por sua vez, comprometem a qualidade de vida dos indivíduos, podendo levar a mortes prematuras (FLEGAL et al., 2005; LAVIE et al., 2009; BOMBELLI et al., 2011). Indivíduos obesos apresentam alterações estruturais no coração, como hipertrofia do ventrículo esquerdo (BAROUCH et al., 2003), acúmulo de lipídios (THAKKER et al., 2006) e fibrose (ZAMAN et al., 2001), as quais comprometem a função cardíaca (PARK et al., 2005). Além das alterações observadas no coração, a funcionalidade dos vasos sanguíneos também é afetada. Estudos mostram que a obesidade está intimamente relacionada com a disfunção endotelial associada ao estresse oxidativo devido,

principalmente, à redução da produção e/ou biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) e ao aumento dos níveis de mediadores inflamatórios e de moléculas de adesão, acarretando prejuízo na capacidade de relaxamento dependente do endotélio (KIM et al., 2007; KRALISCH et al., 2008; MALONEY et al., 2009; KOBAYASI et al., 2010; XIA et al., 2016). Ainda, outros mecanismos biológicos já foram associados às alterações vasculares promovidas pela obesidade, como o aumento da atividade do sistema nervoso simpático e a ativação do sistema renina angiotensina aldosterona (TROISI et al., 1991; GIACCHETTI et al., 2000; CARLYLE et al., 2002; BOUSTANY et al., 2004; GOOSSENS et al., 2007; HITOMI et al., 2007; YIANNIKOURIS et al., 2012). Além disso, a resistência à insulina também tem sido associada à redução da biodisponibilidade de NO e ao comprometimento das respostas vasculares (MCKAY e HESTER, 1996; CLERK et al., 2006; KUBOTA et al., 2011; MEIJER et al., 2013).

### **1.2. Sistema cardiovascular: leito vascular**

O sistema cardiovascular tem participação obrigatória na manutenção da homeostase do organismo, sendo responsável pela geração de fluxo e, conseqüentemente, pela manutenção da temperatura e do pH e pelo transporte de gases, nutrientes, hormônios e metabólitos, além de células e moléculas que auxiliam a defesa do organismo (Revisado em: PUGSLEY E TRABRIZCHI, 2000). Para desempenhar tais funções, o sistema cardiovascular é constituído pelo coração, que atua como uma bomba e impulsiona o fluxo de sangue para a circulação pulmonar e sistêmica, e pelos vasos sanguíneos, que funcionam como uma rede de tubos que distribuem e coletam esse fluxo de sangue no organismo.

Os vasos sanguíneos possuem uma estrutura histológica composta por três camadas que variam de espessura e composição de acordo com a função desempenhada pelo vaso (Revisado em: PUGSLEY E TABRIZCHI, 2000). Da porção mais externa para a mais interna, o vaso é formado pelas seguintes camadas: adventícia, formada principalmente por fibroblastos e fibras colágenas; média, constituída por uma lâmina elástica e pelas células do músculo liso vascular (CMLVs); íntima, composta pelas células endoteliais (Revisado em: PUGSLEY E TABRIZCHI, 2000). A comunicação entre as diferentes camadas e células que compõem a parede do vaso é de suma



importância para o controle local do tônus vascular. O estado contrátil das CMLVs, processo que determina o tônus vascular, tem como base a interação entre os filamentos de actina e miosina (Revisado em: WEBB, 2003). O aumento de  $\text{Ca}^{2+}$  no citoplasma favorece a formação do complexo  $\text{Ca}^{2+}$ /Calmodulina (Ca/CAM) que ativa a quinase da cadeia leve da miosina (MLCK), a qual é responsável por fosforilar a cadeia leve da miosina (MLC) aumentando sua afinidade com a actina. Com a redução dos níveis de  $\text{Ca}^{2+}$  e/ou ativação por meio de segundos mensageiros, a fosfatase da MLC remove o grupo fosfato da miosina resultando em redução da contração (Revisado em: WEBB, 2003).

Considerando que as CMLVs apresentam receptores adrenérgicos em sua membrana, a administração de catecolaminas em artérias isoladas é utilizada como importante estratégia para o estudo de reatividade vascular. A noradrenalina, por exemplo, se liga a receptores  $\alpha$ -adrenérgicos, os quais estão acoplados à proteína  $G_q$  e ativam uma via de sinalização por meio da fosfolipase C (PLC) (BÜLBRING E TOMITA, 1987). A ativação de PLC hidroliza fosfatidilinositol 4,5-bifosfato ( $\text{PIP}_2$ ) em diacilglicerol (DAG) e inositol 1,4,5-trifosfato ( $\text{IP}_3$ ), os quais aumentam as concentrações citoplasmáticas de  $\text{Ca}^{2+}$  pelo retículo sarcoplasmático (Revisado em: KARAKI et al., 1997). O aumento da concentração de cálcio também leva a despolarização da membrana e a abertura de canais para cálcio dependentes de voltagem, o que amplifica as concentrações de cálcio e a contração. Por outro lado, a noradrenalina, em concentrações mais altas, ativa os receptores  $\beta$ -adrenérgicos acoplados à proteína  $G_s$ , ativando a via de sinalização da adenilato ciclase (AC), a qual aumenta os níveis de adenosina 3,5-monofosfato cíclico (AMPc) e favorece a ativação da proteína quinase A (PKA) (BÜLBRING E TOMITA, 1987). Essa cascata de sinalização promove, entre outros efeitos, o efluxo de  $\text{K}^+$  e hiperpolarização da membrana das CMLVs, o que fecha canais para cálcio dependentes de voltagem, resultando em vasodilatação (Revisado em: WEBB, 2003).

As células endoteliais produzem e liberam fatores relaxantes (NO, prostaciclina e EDHF) e contráteis (endotelina, prostaglandinas, angiotensina II e espécies reativas de oxigênio) que regulam diretamente o estado contrátil das CMLVs, modulando o tônus vascular (FURCHGOTT E ZAWADZKI, 1980;

PALMER et al., 1987; VANHOUTTE E BOULANGER, 1995; VANHOUTTE et al., 2017). Dentre os fatores relaxantes que são liberados pelo endotélio, no contexto da presente dissertação, o NO merece destaque.

O NO é sintetizado pela óxido nítrico sintase (NOS), a qual é encontrada nos vasos sanguíneos em três diferentes isoformas: NO sintase endotelial (eNOS), neuronal (nNOS) e induzível (iNOS) (SCHWARZ et al., 1999; Revisado em: FÖRSTERMANN E SESSA, 2012). Fisiologicamente, o aumento de fluxo sanguíneo aumenta a tensão de cisalhamento, a qual estimula canais para  $Ca^{2+}$  sensíveis ao estiramento, promovendo influxo de  $Ca^{2+}$ , e por deformação de proteínas do citoesqueleto ativa também a via de sinalização da proteína quinase B (PKB ou AKT) (Revisado em: FLEMING E BUSSE, 1999; FLEMING, 2010). O aumento das concentrações de  $Ca^{2+}$  intracelular favorece a formação do complexo Ca/CAM que, associado à ativação da via de sinalização da PKB/AKT, favorece a fosforilação das NOS em seus sítios de ativação tornando a eNOS ativa nas células endoteliais (FÖRSTERMANN et al., 1991). Contudo, é válido ressaltar que outros mecanismos são capazes de regular a atividade da NOS, como a presença dos seus co-fatores e a concentração de substrato (FLEMING E BUSSE, 1999; FULTON et al., 1999; FLEMING, 2010). Estando ativada, a NOS, na presença de  $O_2$ , utiliza o aminoácido L-arginina como substrato para sintetizar NO (PALMER et al., 1988). O NO é uma molécula pequena, o que permite a sua difusão para as CMLVs, onde ativa a guanilato ciclase solúvel (GCs), promovendo a conversão de guanosina trifosfato (GTP) em guanosina monofosfato cíclico (GMPc) (IGNARRO et al., 1987). O aumento de GMPc, por sua vez, ativa a proteína quinase dependente de GMPc (PKG) resultando em quatro principais efeitos: efluxo de  $Ca^{2+}$ , aumento da recaptação de  $Ca^{2+}$  pelo retículo sarcoplasmático, hiperpolarização da membrana plasmática e desfosforilação da MLC (Revisado em: KARAKI et al., 1997), os quais culminam na vasodilatação das CMLVs.

Outro importante fator vasodilatador sintetizado pela NOS é o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (MATOBA et al., 2000; MATOBA et al., 2002). Já é amplamente demonstrado na literatura que, em condições de redução de seus cofatores ou substrato, a eNOS é capaz de gerar o ânion superóxido ( $O_2^-$ ) e, de forma indireta, formar  $H_2O_2$  (STROES et al., 1998; LAURSEN et al., 2001; LIN et al., 2003; YADA et al., 2003; FLEMING et al., 2005). O  $H_2O_2$  atua na parede

vascular ativando canais para potássio, o que resulta em hiperpolarização da membrana da CMLV e favorece a vasodilatação (BARLOW E WHITE, 1998; HAYABUCHI et al., 1998). Apesar das estruturas moleculares das diferentes isoformas da NOS serem semelhantes, elas apresentam certas diferenças funcionais. Sabe-se que a nNOS, diferente da eNOS, é capaz de gerar  $H_2O_2$  de forma direta, sem estar desacoplada, em etapas anteriores à formação de NO, e que esse fato contribui ativamente para a manutenção da função vascular em camundongos (CAPETTINI et al., 2008; CAPETTINI et al., 2010). Dessa forma, alterações na biodisponibilidade de NO e  $H_2O_2$  podem comprometer a homeostase vascular.

Tendo como base estes conceitos, é possível realizar manobras experimentais em artérias isoladas para avaliar a funcionalidade do endotélio. Um exemplo de manobra é a utilização de acetilcolina (ACh) para induzir vasodilatação dependente de endotélio (FURCHGOTT E ZAWADZKI, 1980). A ACh se liga ao receptor muscarínico presente nas células endoteliais, o qual está associado à proteína  $G_q$ , e ativa a via de sinalização de PLC. Essa via envolve os segundos mensageiros DAG e  $IP_3$  e aumenta a liberação de  $Ca^{2+}$  pelo retículo sarcoplasmático, permitindo a formação do complexo Ca/CAM que ativa tanto a eNOS como a nNOS (TRACEY E PEACH, 1992; BÉNY et al., 2008). Adicionalmente, as células endoteliais também apresentam, em sua membrana, receptores adrenérgicos e sua ativação deve ser considerada nas diferentes estratégias de estudos experimentais. Um exemplo disso é que a ativação dos receptores  $\beta$ -adrenérgicos também é capaz de promover vasodilatação por ativação da NOS via  $G_s$ /AMPc/PKA (FERRO et al., 2004; QUEEN et al., 2006).

Nas últimas décadas, diversos trabalhos demonstraram que a obesidade promove inflamação vascular, a qual está associada ao desenvolvimento de disfunção endotelial (KIM et al., 2007; KRALISCH et al., 2008; MALONEY et al., 2009; KOBAYASI et al., 2010). Já foi relatado que o tratamento com dieta rica em gordura é capaz de ativar a via TLR-4/NF- $\kappa$ B e inibir a fosforilação do receptor de insulina IRS-1, o que reduz a fosforilação de AKT e, por consequência, a fosforilação da eNOS (KIM et al., 2007). Além disso, foi visto que o NF- $\kappa$ B está associado ao aumento de moléculas pró-inflamatórias, como IL-6 e TNF- $\alpha$ , e de moléculas de adesão, como ICAM e VCAM, em células

endoteliais tratadas com palmitato (KIM et al., 2007) ou com meio condicionado derivado de adipócitos (KRALISCH et al., 2008). Vale destacar também que o NF- $\kappa$ B pode ativar a NADPH oxidase e aumentar os níveis de ânion superóxido (MALONEY et al., 2009). Esses mecanismos foram reforçados pela observação da redução da resposta vasodilatadora dependente de endotélio em camundongo obesos, a qual foi prevenida pela inibição local do NF- $\kappa$ B (KOBAYASI et al., 2010).

### **1.3. Tecido adiposo perivascular (PVAT)**

O PVAT é a camada de tecido adiposo localizada diretamente em contato com a adventícia, circundando a maioria dos vasos sanguíneos, com exceção das artérias cerebrais (Revisado em: GIL-ORTEGA et al., 2015). Por muito tempo, este tecido foi considerado responsável apenas pela função mecânica de sustentação do vaso, sendo rotineiramente retirado nos procedimentos experimentais. Somente em 1991 iniciaram-se as primeiras descrições que indicavam outras funções para este tecido. Ao estudar a presença do PVAT durante ensaios de reatividade vascular da aorta de ratos Sprague-Dawley, foi observado que este tecido era capaz de atenuar a contração em resposta à noradrenalina (SOLTIS E CASSIS, 1991). Posteriormente, Löhn e colaboradores mostraram que o efeito promovido pelo PVAT não é devido a uma possível barreira mecânica formada por ele e que sua ação anticontrátil independe do agonista utilizado e das terminações nervosas perivasculares (LÖHN et al., 2002). A partir de então, diversos estudos foram conduzidos nas últimas décadas a fim de elucidar o papel do PVAT no organismo.

O PVAT é considerado um órgão endócrino que desempenha importante ação parácrina para a manutenção da homeostase vascular cujos efeitos variam de acordo com a adiposidade do indivíduo (CHATTERJEE et al., 2009; GREENSTEIN et al., 2009). As características histológicas do PVAT variam de acordo com a sua localização. Alguns PVATs apresentam características histológicas semelhantes ao tecido adiposo marrom, como o PVAT da aorta torácica, que é constituído por adipócitos multiloculares que expressam a proteína termogênica de desacoplamento 1 – UCP1 (GÁLVEZ-PRIETO et al., 2008). Por outro lado, o PVAT das artérias mesentéricas e da aorta abdominal é constituído em sua maioria por adipócitos uniloculares, tendo uma proximidade maior ao tecido adiposo branco (GÁLVEZ-PRIETO et al., 2008).

Apesar das semelhanças histológicas com os demais depósitos de tecido adiposo, alguns estudos demonstraram, interessante, que o PVAT possui origem embrionária distinta. A deleção do gene do receptor ativado por proliferador de peroxissoma tipo gama – PPAR $\gamma$  (fator de transcrição associado à adipogênese) condicionado à expressão do gene da proteína de músculo liso 22 alfa – SM22 $\alpha$  (marcador de diferenciação de CMLV) inibiu a formação de PVAT nesses animais, sugerindo que os adipócitos do PVAT possuem mesma origem embrionária que as CMLVs (CHANG et al., 2012). Além disso, já foi demonstrado que o PVAT não expressa o gene *Zic1* (essencial para o desenvolvimento do tecido adiposo marrom), reforçando que o PVAT não compartilha a mesma origem embrionária que os demais depósitos de tecido adiposo (CONTRERAS et al., 2016).

De modo geral, o PVAT é composto principalmente por adipócitos que liberam moléculas vasoativas, as quais modulam a homeostase vascular por meio da regulação do tônus vascular, da migração e proliferação das CMLVs, inflamação e estresse oxidativo (LÖHN et al., 2002; BARANDIER et al., 2005; CHATTERJEE et al., 2009; GREENSTEIN et al., 2009). Além dos adipócitos, o PVAT também contém macrófagos e linfócitos T, os quais secretam diversas citocinas e fatores que irão influenciar o controle do tônus vascular (MOOS et al., 2005; GALKINA et al., 2006). Dessa forma, em condições fisiológicas, o PVAT exerce efeito anticontrátil por meio da liberação de moléculas que apresentam a capacidade de contrapor a resposta contrátil como, por exemplo: NO, adiponectina, leptina, angiotensina 1-7 e sulfeto de hidrogênio (FANG et al., 2009; GREENSTEIN et al., 2009; GIL-ORTEGA et al., 2010; LEE et al., 2011; KÖHN et al., 2012; GÁLVEZ-PRIETO et al., 2012; AGHAMOHAMMADZADEH et al., 2015; VICTORIO et al., 2016; XIA et al., 2016; BAKAR et al., 2017; BUSSEY et al., 2018). Sabe-se ainda que o papel exercido pelo PVAT ocorre de forma dependente e independente do endotélio (GAO et al., 2007). Tais características destacam a importância do PVAT no controle da função vascular.

Diversos trabalhos da literatura têm demonstrado que na obesidade o PVAT encontra-se disfuncional. De forma bastante interessante, recentemente foi revelado que a obesidade induzida por dieta de cafeteria pode levar a um aumento do efeito anticontrátil do PVAT (REIS-COSTA, et al., 2021), sugerindo

que os efeitos promovidos pela obesidade são fortemente influenciados pelo modelo animal utilizado, tipo de dieta e tempo de exposição à dieta. Um estudo utilizando pequenas artérias provenientes da gordura subcutânea do glúteo de humanos mostrou que o PVAT de indivíduos obesos perde sua capacidade de se contrapor ao agonista contrátil (GREENSTEIN et al., 2009). Além disso, este estudo mostrou que a adiponectina exerce um papel importante na redução da contração, e que a incubação de citocinas inflamatórias, como TNF- $\alpha$  e IL-6, na presença do PVAT em artérias de indivíduos saudáveis aumenta sua resposta contrátil, assemelhando-se ao fenótipo observado nos indivíduos obesos (GREENSTEIN et al., 2009). Adicionalmente, o PVAT da aorta torácica de ratos Wistar alimentados com dieta rica em gordura apresentou redução no seu efeito anticontrátil e menor vasodilatação dependente de endotélio (MA et al., 2010). Ainda, foi observado que o grupo obeso possuía uma camada média mais espessa e adipócitos do PVAT com gotas lipídicas maiores (MA et al., 2010). Ao investigar os mecanismos envolvidos, foi visto redução da fosforilação da proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina (p-AMPK) e da fosforilação de sítios de ativação da eNOS, sugerindo que a AMPK está envolvida na disfunção do PVAT promovida pela obesidade (MA et al., 2010). Mais recentemente, em camundongos C56BL/6, foi demonstrado que a dieta rica em gordura reduziu os níveis de NO no PVAT por aumento das arginases 1 e 2 e consequente redução do substrato das NOS, a L-arginina, e aumentou os níveis do ânion superóxido ( $O_2^-$ ) no PVAT, o que foi atenuado pela inibição da NOS por L-NAME (XIA et al., 2016). O PVAT desses animais também apresentou um fenótipo pró-inflamatório, com aumento de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IFN- $\gamma$ , maior infiltração de macrófagos e redução de adiponectina e IL-10 (XIA et al., 2016). Desse modo, alterações no PVAT podem contribuir para a disfunção desse tecido e promover desajustes na manutenção do tônus vascular e regulação do fluxo sanguíneo para órgãos e tecidos.

#### **1.4. microRNA-22**

Os microRNAs (miRNAs) são uma classe de pequenos RNAs não codificantes (cerca de 21 nucleotídeos de comprimento) que desempenham papel na regulação pós-transcricional da expressão gênica, participando de vários processos biológicos básicos como, por exemplo, metabolismo celular, proliferação, apoptose e resposta à estresse (AMBROS, 2004). O primeiro

miRNA, chamado de lin 4, foi descoberto em 1993 em *C. elegans*, e foi caracterizado como responsável por regular o desenvolvimento pós-embrionário desse nematódeo (LEE et al., 1993). Anos depois, um segundo miRNA (*let-7*) também responsável pela regulação do desenvolvimento de *C. elegans* foi descrito (REINHART et al., 2000). Interessantemente, foi demonstrado que a sequência de transcrição desse miRNA apresentava-se conservada em diferentes espécies (PASQUINELLI et al., 2000). Esses trabalhos abriram um novo campo de estudo e estimularam que diversos outros fossem executados com a finalidade de descrever e entender o papel dessas moléculas no organismo.

Atualmente sabe-se que os miRNAs são transcritos no núcleo celular em pri-miRNA pela enzima RNA polimerase II (CAI et al., 2004; LEE et al., 2004). O pri-miRNA é clivado pela enzima Drosha formando uma molécula denominada pré-miRNA que possui uma estrutura semelhante a um grampo de cabelo (*hairpin*) (AMBROS et al., 2003; LEE et al., 2003). O pré-miRNA é exportado para o citoplasma por meio de uma proteína transmembrana, a exportina-5 (LEE et al., 2002; YI et al., 2003; BOHNSACK et al., 2004; LUND et al., 2004). No citoplasma os pré-miRNA são processados pela enzima Dicer, a qual cliva o *loop* de uma das extremidades do *hairpin* formando um duplex de miRNAs maduros (BERNSTEIN et al., 2001; GRISHOK et al., 2001; HUTVAGNER et al., 2001; KETTING et al., 2001; KNIGHT E BASS, 2001). As moléculas de miRNA maduro são denominadas miRNA-5p e miRNA-3p de acordo com a sua origem no pré-miRNA. Embora ambas as fitas possam ser funcionais e servirem como guia para o complexo de silenciamento de RNA, apenas uma delas é incorporada pelo complexo RISC enquanto a outra é degradada (HAMMOND et al., 2000; HAMMOND et al., 2001; CAUDY et al., 2002; ISHIZUKA et al., 2002). A partir desse complexo, constituído por proteínas da família argonauta, o miRNA é direcionado para o RNA mensageiro alvo e, na maioria dos casos, pareia com sítios localizados na região 3' UTR, inibindo a tradução ou provocando sua degradação, atuando, assim, como reguladores pós-transcricionais da expressão gênica (LEE et al., 1993; REINHART et al., 2000; HAMMOND et al., 2001; AMBROS, 2004).

Estudos realizados nos últimos anos caracterizam o papel dos miRNAs na função do sistema cardiovascular e no desenvolvimento das doenças que

afetam esse sistema. Mais recentemente, uma série de trabalhos demonstraram a importante participação de miRNAs na manutenção do perfil das CMLVs (CHENG et al., 2009; XIN et al., 2009; CHANDY et al., 2018; ZOU et al., 2018) e da funcionalidade das células endoteliais (HARRIS et al., 2008; SUN et al., 2012). Dessa forma, o balanço adequado da expressão de miRNAs específicos é importante para o controle do tônus vascular.

Embora o microRNA-22 (miR-22) tenha sido inicialmente descrito como um supressor tumoral (XU et al., 2011; LING et al., 2012), nos últimos anos vários estudos têm avaliado o papel do miR-22 no sistema cardiovascular e indicado esse miRNA como fator importante para a função cardíaca. Foi demonstrado, então, que a deleção do miR-22 previne o desenvolvimento da hipertrofia e o remodelamento cardíaco em resposta à sobrecarga de pressão (HUANG et al., 2013). Em consonância, a superexpressão do miR-22 promove hipertrofia cardíaca e disfunção contrátil, o que acarreta falência cardíaca (GURHA et al., 2012).

Trabalhos subsequentes do nosso grupo demonstraram que o miR-22 tem seu padrão de expressão aumentado no tecido cardíaco de camundongos obesos (GUEDES et al., 2016; DINIZ et al., 2017; SILVA et al., 2020). Ainda, camundongos *knockout* para esse miRNA, quando tratados com dieta rica em gordura por 12 semanas, têm atenuação do ganho de tecido adiposo branco (DINIZ et al., 2017; SILVA et al., 2020; LIMA et al., 2021), sugerindo, assim, que este miRNA está envolvido no aumento da adiposidade promovido pela obesidade.

Embora a literatura ainda seja escassa, alguns trabalhos identificaram o papel do miR-22 no leito vascular. Sabe-se que o miR-22 está envolvido na modulação do fenótipo das CMLVs em diferentes momentos da vida (ZHAO et al., 2015; YANG et al., 2018). Além disso, a superexpressão do miR-22 nas células endoteliais aumenta as concentrações de citocinas como IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$ , indicando o miR-22 como molécula importante para a resposta inflamatória (GU et al., 2017). Ainda, o aumento da expressão de miR-22 reduz a proliferação das CMLVs e inibe a formação da neoíntima em modelo de injúria vascular de artérias femorais (YANG et al., 2018).

Apesar da participação do miR-22 no desenvolvimento de doenças que acometem o sistema cardiovascular já ter sido identificada, até o momento não



há estudos que tenham caracterizado o papel deste miRNA na reatividade vascular, e se este miRNA pode influenciar as ações do PVAT na resposta vascular. Ainda, considerando os efeitos do miR-22 sobre o sistema cardiovascular e sobre as alterações inflamatórias induzidas pela obesidade, hipotetizamos que este miRNA também poderia influenciar a reatividade vascular em camundongos obesos, e que este efeito poderia ser modulado, ao menos em parte, pelo PVAT.

## **2. CONCLUSÃO**

Os dados obtidos durante a execução desta dissertação indicam que a ausência do miR-22 promove redução da contração à noradrenalina e perda do efeito anticontrátil do PVAT, provavelmente, como mecanismo compensatório à hiporreatividade apresentada pela artéria. Ainda, a ausência do miR-22 em camundongos obesos aumenta a expressão de nNOS no PVAT, e aumenta a participação de produtos da NOS em resposta à noradrenalina, provavelmente em resposta à redução da ativação de eNOS induzida pela dieta rica em gordura. Dessa forma, o conjunto desses dados indica que o miR-22 é importante para a manutenção da função vascular em condição fisiológica e contribui com a disfunção do PVAT na obesidade. No entanto, estudos são ainda necessários para elucidar quais mecanismos biológicos estão envolvidos nesses efeitos.

## **BIBLIOGRAFIA**

AGHAMOHAMMADZADEH, Reza; UNWIN, Richard D.; GREENSTEIN, Adam S.; HEAGERTY, Anthony M. Effects of obesity on perivascular adipose tissue vasorelaxant function: nitric oxide, inflammation and elevated systemic blood pressure. **Journal of Vascular Research**, v. 52, p. 299-305, 2015.

AHIMA, Rexford S. Digging deeper into obesity. **The Journal of clinical investigation**, v. 121, p. 2076-2079, 2011.

AMBROS, Victor; LEE, Rosalind C.; LAVANWAY, Ann; WILLIAMS, Peter T.; JEWELL, David. MicroRNAs and other tiny endogenous RNAs in *C. elegans*. **Current Biology**, v. 13, p. 807-818, 2003.

AMBROS, Victor. The functions of animal microRNAs. **Nature**, v. 431, p. 350-355, 2004.

BAKAR, Hamidah A.; DUNN, William R.; DALY, Craig; RALEVIC, Vera. Sensory innervation of perivascular adipose tissue: a crucial role in artery vasodilatation and leptin release. **Cardiovascular research**, v. 113, p. 962-972, 2017.

BARANDIER, Christine; MONTANI, Jean-Pierre; YANG, Zhihong. Mature adipocytes and perivascular adipose tissue stimulate vascular smooth muscle cell proliferation: effects of aging and obesity. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 289, p. H1807-H1813, 2005.

BARLOW, Robert S.; WHITE, Richard E. Hydrogen peroxide relaxes porcine coronary arteries by stimulating BKCa channel activity. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 275, p. H1283-H1289, 1998.

BÉNY, Jean-Louis; NGUYEN, Minh N.; MARINO, Mathieu; MATSUI, Minoru. Muscarinic receptor knockout mice confirm involvement of M3 receptor in endothelium-dependent vasodilatation in mouse arteries. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 51, p. 505-512, 2008.

BERNSTEIN, Emily; CAUDY, Amy A.; HAMMOND, Scott M.; HANNON, Gregory. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. **Nature**, v. 409, p. 363-366, 2001.

BOHNSACK, Markus T.; CZAPLINSKI, Kevin; GÖRLICH, Dirk. Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs. **Rna**, v. 10, p. 185-191, 2004.

BOMBELLI, Michele; FACCHETTI, Rita; SEGA, Roberto; CARUGO, Stefano; FODRI, Danilo; BRAMBILLA, Gianmaria; GIANNATTASIO, Cristina; GRASSI, Guido; MANCIA, Giuseppe. Impact of body mass index and waist circumference on the long-term risk of diabetes mellitus, hypertension, and cardiac organ damage. **Hypertension**, v. 58, p. 1029-1035, 2011.

BOUSTANY, Carine M.; BHARADWAJ, Kalyani; DAUGHERTY, Alan; BROWN, David R.; RANDALL, David C.; CASSIS, Lisa A. Activation of the systemic and adipose renin-angiotensin system in rats with diet-induced obesity and hypertension. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 287, p. R943-R949, 2004.

BÜLBRING, E.; TOMITA, T. Catecholamine action on smooth muscle. **Pharmacological Reviews**, v. 39, p. 49-96, 1987.

BUSSEY, Charlotte E.; WITHERS, Sarah B.; SAXTON, Sophie N.; BODAGH, Neil; ALDOUS, Robert G.; HEAGERTY, Anthony M.  $\beta$ 3-Adrenoceptor stimulation of perivascular adipocytes leads to increased fat cell-derived NO and vascular relaxation in small arteries. **British journal of pharmacology**, v. 175, p. 3685-3698, 2018.

CAI, Xuezhong; HAGEDORN, Curt H.; CULLEN, Bryan R. Human microRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as mRNAs. **Rna**, v. 10, p. 1957-1966, 2004.

CAPETTINI, Luciano SA.; CORTES, Steyner F.; GOMES, MA.; SILVA, GAB.; PESQUERO, JL.; LOPES, MJ.; TEIXEIRA, MM.; LEMOS, Virginia S. Neuronal nitric oxide synthase-derived hydrogen peroxide is a major endothelium-

dependent relaxing factor. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 295, p. H2503-H2511, 2008.

CAPETTINI, Luciano SA.; CORTES, Steyner F.; LEMOS, Virginia S. Relative contribution of eNOS and nNOS to endothelium-dependent vasodilation in the mouse aorta. **European journal of pharmacology**, v. 643, p. 260-266, 2010.

CARLYLE, Megan; JONES, Oscar B.; KUO, Jay J.; HALL, John E. Chronic cardiovascular and renal actions of leptin: role of adrenergic activity. **Hypertension**, v. 39, p. 496-501, 2002.

CAUDY, Amy A.; MYERS, Mike; HANNON, Gregory J.; HAMMOND, Scott M. Fragile X-related protein and VIG associate with the RNA interference machinery. **Genes & development**, v. 16, p. 2491-2496, 2002.

CAWLEY, John. An economy of scales: A selective review of obesity's economic causes, consequences, and solutions. **Journal of Health Economics**, v. 43, p. 244-268, 2015.

CHANDY, Mark; ISHIDA, Masayoshi; SHIKATANI, Eric A.; EL-MOUNAYRI, Omar; PARK, Lawrence C.; AFROZE, Talat; WANG, Tao; MARSDEN, Philip A.; HUSAIN, Mansoor. c-Myb regulates transcriptional activation of miR-143/145 in vascular smooth muscle cells. **PloS one**, v. 13, p. e0202778, 2018.

CHANG, Lin; VILLACORTA, Luis; LI, Rongxia; HAMBLIN, Milton; XU, Wei; DOU, Chunyan; ZHANG, Jifeng; WU, Jiarui; ZENG, Rong; CHEN, Eugene. Loss of perivascular adipose tissue on peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  deletion in smooth muscle cells impairs intravascular thermoregulation and enhances atherosclerosis. **Circulation**, v. 126, p. 1067-1078, 2012.

CHATTERJEE, Tapan K.; STOLL, Lynn L.; DENNING, Gerene M.; HARRELSON, Allan; BLOMKALNS, Andra L.; IDELMAN, Gila; ROTHENBERG, Florence G.; NELTNER, Bonnie; ROMIG-MARTIN, Sara A.; DICKSON, Eric W.; RUDICH, Steven; WEINTRAUB, Neal L. Proinflammatory phenotype of perivascular adipocytes: influence of high-fat feeding. **Circulation research**, v. 104, p. 541-549, 2009.

CHENG, Yunhui; LIU, Xiaojun; YANG, Jian; LIN, Ying; XU, Da-Zhong; LU, Qi; DEITCH, Edwin A.; HUO, Yuqing; DELPHIN, Ellise S.; ZHANG, Chunxiang. MicroRNA-145, a novel smooth muscle cell phenotypic marker and modulator, controls vascular neointimal lesion formation. **Circulation research**, v. 105, p. 158-166, 2009.

CLERK, Lucy H.; VINCENT, Michelle A.; JAHN, Linda A.; LIU, Zhenqi; LINDNER, Jonathan R.; BARRETT, Eugene J. Obesity blunts insulin-mediated microvascular recruitment in human forearm muscle. **Diabetes**, v. 55, p. 1436-1442, 2006.

CONTRERAS, G. Andres; THELEN, Kyan; AYALA-LOPEZ, Nadia; WATTS, Stephanie W. The distribution and adipogenic potential of perivascular adipose tissue adipocyte progenitors is dependent on sexual dimorphism and vessel location. **Physiological reports**, v. 4, p. e12993, 2016.

DINIZ, Gabriela P.; HUANG, Zhan-Peng; LIU, Jianming; CHEN, Jinghai; DING, Jian; FONSECA, Renata I.; BARRETO-CHAVES, Maria Luiza; DONATO, Jose; HU, Xiaoyun; WANG, Da-Zhi. Loss of microRNA-22 prevents high-fat diet induced dyslipidemia and increases energy expenditure without affecting cardiac hypertrophy. **Clinical Science**, v. 131, p. 2885-2900, 2017.

FANG, Liping; ZHAO, Jing; CHEN, Yu; MA, Tiemin; XU, Guoheng; TANG, Chaoshu; LIU, Xinmin; GENG, Bin. Hydrogen sulfide derived from periadventitial adipose tissue is a vasodilator. **Journal of hypertension**, v. 27, p. 2174-2185, 2009.

FERRO, Albert; COASH, Marcy; YAMAMOTO, Takahiro; ROB, Jubli; JI, Yong; QUEEN, Lindsay. Nitric oxide-dependent  $\beta$ 2-adrenergic dilatation of rat aorta is mediated through activation of both protein kinase A and Akt. **British journal of pharmacology**, v. 143, p. 397-403, 2004.

FINUCANE, Mariel M.; STEVENS, Gretchen A.; COWAN, Melanie; DANAEI, Goodarz; LIN, John K.; PACIOREK, Christopher J.; SINGH, Gitanjali M.; GUTIERREZ, Hialy R.; LU, Yuan; BAHALIM, Adil N.; FARZADFAR, Farshad; RILEY, Leanne M.; EZZATI, Majid. National, regional, and global trends in

body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. **Lancet**, v. 377, p. 557-567, 2011.

FLEGAL, Katherine M.; GRAUBARD, Barry I.; WILLIAMSON, David F.; GAIL, Mitchell H. Excess deaths associated with underweight, overweight, and obesity. **Journal of American Medical Association**, v. 293, p. 1861-1867, 2005.

FLEMING, Ingrid; BUSSE, Rudi. NO: the primary EDRF. **Journal of molecular and cellular cardiology**, v. 31, p. 5-14, 1999.

FLEMING, Ingrid; MOHAMED, Annisuddin; GALLE, Jan; TURCHANOWA, Ljudmila; BRANDES, Ralf P.; FISSALTHALER, Beate; BUSSE, Rudi. Oxidized low-density lipoprotein increases superoxide production by endothelial nitric oxide synthase by inhibiting PKC $\alpha$ . **Cardiovascular Research**, v. 65, p. 897-906, 2005.

FLEMING, Ingrid. Molecular mechanisms underlying the activation of eNOS. **European Journal of Physiology**, v. 459, p. 793-806, 2010.

FÖRSTERMANN, Ulrich; SESSA, William C. Nitric oxide synthases: regulation and function. **European heart journal**, v. 33, p. 829-837, 2012.

FULTON, David; GRATTON, Jean-Philippe; MCCABE, Timothy J.; FONTANA, Jason; FUJIO, Yasushi; WALSH, Kenneth; FRANKE, Thomas F.; PAPAPETROPOULOS, Andreas; SESSA, William C. Regulation of endothelium-derived nitric oxide production by the protein kinase Akt. **Nature**, v. 399, p. 597-601, 1999.

FURCHGOTT, Robert F.; ZAWADZKI, John V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v. 288, p. 373-376, 1980.

GALKINA, Elena; KADL, Alexandra; SANDERS, John; VARUGHESE, Danielle; SAREMBOCK, Ian J.; LEY, Klaus. Lymphocyte recruitment into the aortic wall

before and during development of atherosclerosis is partially L-selectin dependent. **Journal of Experimental Medicine**, v. 203, p. 1273-1282, 2006.

GÁLVEZ-PRIETO, B.; BOLBRINKER, J.; STUCCHI, P.; DE LAS HERAS, AI.; MERINO, B.; ARRIBAS, S.; RUIZ-GAYO, M.; HUBER, M.; WEHLAND, M.; KREUTZ, R.; FERNANDEZ-ALFONSO, MS. Comparative expression analysis of the renin-angiotensin system components between white and brown perivascular adipose tissue. **Journal of Endocrinology**, v. 197, p. 55-64, 2008.

GÁLVEZ-PRIETO, Beatriz; SOMOZA, Beatriz; GIL-ORTEGA, Marta; GARCÍA-PRIETO, Concha F.; DE LAS HERAS, Ana I.; GONZÁLEZ, M. Carmen; ARRIBAS, Silvia; ARANGUEZ, Isabel; BOLBRINKER, Juliane; KREUTZ, Reinhold; RUIZ-GAYO, Mariano; FERNÁNDEZ-ALFONSO, Maria S. Anticontractile effect of perivascular adipose tissue and leptin are reduced in hypertension. **Frontiers in pharmacology**, v. 3, p. 103, 2012.

GAO, YJ.; LU, C.; SU, LY.; SHARMA, AM.; LEE, RMKW. Modulation of vascular function by perivascular adipose tissue: the role of endothelium and hydrogen peroxide. **British journal of pharmacology**, v. 151, p. 323-331, 2007.

GIACCHETTI, Gilberta; SECHI, Leonardo A.; GRIFFIN, Chandi A.; DON, Burl R.; MANTERO, Franco; SCHAMBELAN, Morris. The tissue renin-angiotensin system in rats with fructose-induced hypertension: overexpression of type 1 angiotensin II receptor in adipose tissue. **Journal of hypertension**, v. 18, p. 695-702, 2000.

GIL-ORTEGA, Marta; STUCCHI, Paula; GUZMÁN-RUIZ, Rocío; CANO, Victoria; ARRIBAS, Silvia; GONZÁLEZ, M. Carmen; RUIZ-GAYO, Mariano; FERNÁNDEZ-ALFONSO, Maria S.; SOMOZA, Beatriz. Adaptative nitric oxide overproduction in perivascular adipose tissue during early diet-induced obesity. **Endocrinology**, v. 151, p. 3299-3306, 2010.

GIL-ORTEGA, Marta; SOMOZA, Beatriz; HUANG, Yu; GOLLASCH, Maik; FERNÁNDEZ-ALFONSO, Maria S. Regional differences in perivascular adipose

tissue impacting vascular homeostasis. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 26, p. 367-375, 2015.

GOOSSENS, Gijts H.; JOCKEN, Johan WE.; BLAAK, Ellen E.; SCHIFFERS, Paul M.; SARIS, Wim HM.; VAN BAAK, Marleen A. Endocrine role of the renin-angiotensin system in human adipose tissue and muscle: effect of  $\beta$ -adrenergic stimulation. **Hypertension**, v. 49, p. 542-547, 2007.

GREENSTEIN, Adam S.; KHAVANDI, Kaivan; WITHERS, Sarah B.; SONOYAMA, Kazuhiko; CLANCY, Olivia; JEZIORSKA, Maria; LAING, Ian; YATES, Allen P.; PEMBERTON, Philip W.; MALIK, Rayaz A.; HEAGERTY, Anthony M. Local inflammation and hypoxia abolish the protective anticontractile properties of perivascular fat in obese patients. **Circulation**, v. 119, p. 1661-1670, 2009.

GRISHOK, Alla; PASQUINELLI, Amy E.; CONTE, Darryl; LI, Na; PARRISH, Susan; HA, Ilho; BAILLIE, David L.; FIRE, Andrew; RUVKUN, Gary; MELLO, Craig C. Genes and mechanisms related to RNA interference regulate expression of the small temporal RNAs that control *C. elegans* developmental timing. **Cell**, v. 106, p. 23-34, 2001.

GU, Wei; ZHAN, Huihui; ZHOU, Xin-Ying; YAO, Lun; YAN, Meiping; CHEN, Ao; LIU, Jie; REN, Xiaojiao; ZHANG, Xinhua; LIU, Jing-Xia; LIU, Guoquan. Micro RNA-22 regulates inflammation and angiogenesis via targeting VE-cadherin. **FEBS letters**, v. 591, p. 513-526, 2017.

GUEDES, Elaine C.; FRANÇA, Gustavo S.; LINO, Caroline A.; KOYAMA, Fernanda C.; MOREIRA, Luana N.; ALEXANDRE, Juliana G.; BARRETO-CHAVES, Maria LM.; GALANTE, Pedro AF.; DINIZ, Gabriela P. MicroRNA expression signature is altered in the cardiac remodeling induced by high fat diets. **Journal of cellular physiology**, v. 231, p. 1771-1783, 2016.

GURHA, Priyatansh; ABREU-GOODGER, Cej; WANG, Tiannan; RAMIREZ, Maricela O.; DRUMOND, Ana L.; VAN DONGEN, Stijn; CHEN, Yuqing; BARTONICEK, Nenad; ENRIGHT, Anton J.; LEE, Brendan; KELM, Robert J.; REDDY, Anilkumar K.; TAFFET, George E.; BRADLEY, Allan; WEHRENS, Xander H.; ENTMAN, Mark L.; RODRIGUEZ, Antony. Targeted deletion of



microRNA-22 promotes stress-induced cardiac dilation and contractile dysfunction. **Circulation**, v. 125, p. 2751-2761, 2012.

HAMMOND, Scott M.; BERNSTEIN, Emily; BEACH, David; HANNON, Gregory J. An RNA-directed nuclease mediates post-transcriptional gene silencing in *Drosophila* cells. **Nature**, v. 404, p. 293-296, 2000.

HAMMOND, Scott M.; BOETTCHER, Sabrina; CAUDY, Amy A.; KOBAYASHI, Ryuji; HANNON, Gregory J. Argonaute2, a link between genetic and biochemical analyses of RNAi. **Science**, v. 293, p. 1146-1150, 2001.

HARRIS, Tamia A.; YAMAKUCHI, Munekazu; FERLITO, Marcella; MENDELL, Joshua T.; LOWENSTEIN, Charles J. MicroRNA-126 regulates endothelial expression of vascular cell adhesion molecule 1. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, p. 1516-1521, 2008.

HAYABUCHI, Yasunobu; NAKAYA, Yutaka; MATSUOKA, Suguru; KURODA, Yasuhiro. Hydrogen peroxide-induced vascular relaxation in porcine coronary arteries is mediated by Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channels. **Heart and vessels**, v. 13, p. 9-17, 1998.

HITOMI, Hirofumi; KIYOMOTO, Hideyasu; NISHIYAMA, Akira; HARA, Taiga; MORIWAKI, Kumiko; KAIFU, Kumiko; IHARA, Genei; FUJITA, Yoshiko; UGAWA, Toyomu; KOHNO, Masakazu. Aldosterone suppresses insulin signaling via the downregulation of insulin receptor substrate-1 in vascular smooth muscle cells. **Hypertension**, v. 50, p. 750-755, 2007.

HUANG, Zhan-Peng; CHEN, Jinghai; SEOK, Hee Y.; ZHANG, Zheng; KATAOKA, Masaharu; HU, Xiaoyun; WANG, Da-Zhi. MicroRNA-22 regulates cardiac hypertrophy and remodeling in response to stress. **Circulation research**, v. 112, p. 1234-1243, 2013.

HUTVÁGNER, György; McLACHLAN, Juanita; PASQUINELLI, Amy E.; BÁLINT, Éva; TUSCHL, Thomas; ZAMORE, Phillip D. A cellular function for the RNA-interference enzyme Dicer in the maturation of the let-7 small temporal RNA. **Science**, v. 293, p. 834-838, 2001.

IGNARRO, Louis J.; BUGA, Georgette M.; WOOD, Keith S.; BYRNS, Russell E.; CHAUDHURI, Gautam. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 84, p. 9265-9269, 1987.

ISHIZUKA, Akira; SIOMI, Mikiko C.; SIOMI, Haruhiko. A *Drosophila* fragile X protein interacts with components of RNAi and ribosomal proteins. **Genes & development**, v. 16, p. 2497-2508, 2002.

KARAKI, Hideaki; OZAKI, Hiroshi; HORI, Masatoshi; MITSUI-SAITO, Minori; AMANO, Ken-Ichi; HARADA, Ken-Ichi; MIYAMOTO, Shigeki; NAKAZAWA, Hiroshi; WON, Kyung-Jong; SATO, Koichi. Calcium movements, distribution, and functions in smooth muscle. **Pharmacological reviews**, v. 49, p. 157-230, 1997.

KETTING, René F.; FISCHER, Sylvia E.J.; BERNSTEIN, Emily; SIJEN, Titia; HANNON, Gregory J.; PLASTERK, Ronald H.A. Dicer functions in RNA interference and in synthesis of small RNA involved in developmental timing in *C. elegans*. **Genes & development**, v. 15, p. 2654-2659, 2001.

KIM, Francis; PHAM, Matilda; LUTTRELL, Ian; BANNERMAN, Douglas D.; TUPPER, Joan; THALER, Joshua; HAWN, Thomas R.; RAINES, Elaine W.; SCHAWARTZ, Michael W. Toll-like receptor-4 mediates vascular inflammation and insulin resistance in diet-induced obesity. **Circulation research**, v. 100, p. 1589-1596, 2007.

KNIGHT, Scott W.; BASS, Brenda L. A role for the RNase III enzyme DCR-1 in RNA interference and germ line development in *Caenorhabditis elegans*. **Science**, v. 293, p. 2269-2271, 2001.

KOBAYASI, Renata; AKAMINE, Eliana H.; DAVEL, Ana P.; RODRIGUES, Maria A.M.; CARVALHO, Carla R.O.; ROSSONI, Luciana V. Oxidative stress and inflammatory mediators contribute to endothelial dysfunction in high-fat diet-induced obesity in mice. **Journal of hypertension**, v. 28, p. 2111-2119, 2010.

KÖHN, Carolin; SCHLEIFENBAUM, Johanna; SZIJÁRTÓ, István A.; MARKÓ, Lajos; DUBROVSKA, Galyna; HUANG, Yu; GOLLASCH, Maik. Differential

effects of cystathionine- $\gamma$ -lyase-dependent vasodilatory H<sub>2</sub>S in periadventitial vasoregulation of rat and mouse aortas. **Plos One**, v. 7, p e41951, 2012.

KOPELMAN, Peter G. Obesity as a medical problem. **Nature**, v. 404, p. 635–643, 2000.

KRALISCH, Susan; SOMMER, Grit; STANGL, Verena; KÖHLER, Uwe; KRATZSCH, Jürgen; STEPAN, Holger; FABER, Renaldo; SCHUBERT, Andreas; LÖSSNER, Ulrike; VIETZKE, Angelika; BLUHER, Matthias; STUMVOLL, Michael; FASSHAUER, Mathias. Secretory products from human adipocytes impair endothelial function via nuclear factor  $\kappa$ B. **Atherosclerosis**, v. 196, p. 523-531, 2008.

KUBOTA, Tetsuya; KUBOTA, Naoto; KUMAGAI, Hiroki; YAMAGUCHI, Shinichi; KOZONO, Hideki; TAKAHASHI, Takehiro; INOUE, Mariko; ITOH, Shinsuke; TAKAMOTO, Iseki; SASAKO, Takayoshi; KUMAGAI, Katsuyoshi; KAWAI, Tomoko; HASHIMOTO, Shinji; KOBOYASHI, Tsuneo; SATO, Maki; TOKUYAMA, Kumpei; NISHIMURA, Satoshi; TSUNODA, Masaki; IDE, Tomohiro; MURAKAMI, Koji; YAMAZAKI, Tomomi; EZAKI, Osamu; KAWAMURA, Koichi; MASUDA, Hirotake; MOROI, Masao; SUGI, Kaoru; OIKE, Yuichi; SHIMOKAWA, Hiroaki; YANAGIHARA, Nobuyuki; TSUTSUI, Masato; TERAUCHI, Yasuo; TOBE, Kazuyuki; NAGAI, Ryozo; KAMATA, Katsuo; INOUE, Kenji; KODAMA, Tatsuhiko; UEKI, Kohjiro; KADOWAKI, Takashi. Impaired insulin signaling in endothelial cells reduces insulin-induced glucose uptake by skeletal muscle. **Cell metabolism**, v. 13, p. 294-307, 2011.

LAURSEN, Jørn B.; SOMERS, Mark; KURZ, Sabine; McCANN, Louise; WARNHOLTZ, Ascan; FREEMAN, Bruce A.; TARPEY, Margaret; FUKAI, Tohru; HARRISON, David G. Endothelial regulation of vasomotion in apoE-deficient mice: implications for interactions between peroxynitrite and tetrahydrobiopterin. **Circulation**, v. 103, p. 1282-1288, 2001

LAVIE, Carl J.; MILANI, Richard V.; VENTURA, Hector O. Obesity and cardiovascular disease: risk factor, paradox, and impact of weight loss. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 53, p. 1925-1932, 2009.

LEE, Rosalind C.; FEINBAUM, Rhonda L.; AMBROS, Victor. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. **Cell**, v. 75, p. 843-854, 1993.

LEE, Yoontae; JEON, Kipyong; LEE, Jun-Tae; KIM, Sunyoung; KIM, V Narry. MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. **The EMBO journal**, v. 21, p. 4663-4670, 2002.

LEE, Yoontae; AHN, Chiyong; HAN, Jinju; CHOI, Hyounjeong; KIM, Jaekwang; YIM, Jeongbin; LEE, Junho; PROVOST, Patrick; RADMARK, Olof; KIM, Sunyoung; KIM, V Narry. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. **Nature**, v. 425, p. 415-419, 2003.

LEE, Yoontae; KIM, Minju; HAN, Jinju; YEOM, Kyu-Hyun; LEE, Sanghyuk; BAEK, Sung H.; KIM, V Narry. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. **The EMBO journal**, v. 23, p. 4051-4060, 2004.

LEE, Robert MKW; BADER, Michael; ALENINA, Natalia; SANTOS; Robson AS; GAO, Yu-Jing; LU, Chao. Mas receptors in modulating relaxation induced by perivascular adipose tissue. **Life sciences**, v. 89, p. 467-472, 2011.

LEHNERT, Thomas; SONNTAG, Diana; KONNOPKA, Alexander; RIEDEL-HELLER, Steffi; KÖNIG, Hans-Helmut. Economic costs of overweight and obesity. **Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 27, p. 105-115, 2013.

LIMA, V. M.; LIU, J.; BRANDÃO, B. B.; LINO, C. A.; BALBINO-SILVA, C. S.; RIBEIRO, M.; OLIVEIRA, T. E.; REAL, C. C.; FARIA, D. P.; CEDERQUIST, C.; HUANG, Z. P.; HU, X.; BARRETO-CHAVES, M. L.; FERREIRA, J.; FESTUCCIA, W. T.; MORI, M. A.; KAHN, C. R.; WANG, D. Z.; DINIZ, G. P. miRNA-22 deletion limits white adipose expansion and activates brown fat to attenuate high-fat diet-induced fat mass accumulation. **Metabolism**, v. 117, p. 154723, 2021.

LIN, Michelle I.; FULTON, David; BABBITT, Roger; FLEMING, Ingrid; BUSSE, Rudi; PRITCHARD JR; Kirkwood A.; SESSA, William C. Phosphorylation of threonine 497 in endothelial nitric-oxide synthase coordinates the coupling of L-

arginine metabolism to efficient nitric oxide production. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, p. 44719-44726, 2003.

LING, Bo; WANG, Gui-Xue; LONG, Guang; QIU, Ju-Hui; HU, Zhong-Lei. Tumor suppressor miR-22 suppresses lung cancer cell progression through post-transcriptional regulation of ErbB3. **Journal of cancer research and clinical oncology**, v. 138, p. 1355-1361, 2012.

LÖHN, Matthias; DUBROVSKA, Galyna; LAUTERBACH, Birgit; LUFT, Friedrich C.; GOLLASCH, Maik; SHARMA, Arya M. Periadventitial fat releases a vascular relaxing factor. **The FASEB Journal**, v. 16, p. 1057-1063, 2002.

LUND, Elsebet; GÜTTINGER, Stephan; CALADO, Angelo; DAHLBERG, James E.; KUTAY, Ulrike. Nuclear export of microRNA precursors. **Science**, v. 303, p. 95-98, 2004.

MA, Liqun; MA, Shuangtao; HE, Hongbo; YANG, Dachun; CHEN, Xiaoping; LUO, Zhidan; LIU, Daoyan; ZHU, Zhiming. Perivascular fat-mediated vascular dysfunction and remodeling through the AMPK/mTOR pathway in high-fat diet-induced obese rats. **Hypertension Research**, v. 33, p. 446-453, 2010.

MALONEY, Ezekiel; SWEET, Ian R.; HOCKENBERY, David M.; PHAM, Matilda; RIZZO, Norma O.; TATEYA, Sanshiro; HANDA, Priya; SCHWARTZ, Michael W.; KIM, Francis. Activation of NF- $\kappa$ B by palmitate in endothelial cells: a key role for NADPH oxidase-derived superoxide in response to TLR4 activation. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 29, p. 1370-1375, 2009.

MATOBA, Tetsuya; SHIMOKAWA, Hiroaki; NAKASHIMA, Mikio; HIRAKAWA, Yoji; MUKAI, Yasushi; HIRANO, Katsuya; KANAIDE, Hideo; TAKESHITA, Akira. Hydrogen peroxide is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in mice. **The Journal of clinical investigation**, v. 106, p. 1521-1530, 2000.

MATOBA, Tetsuya; SHIMOKAWA, Hiroaki; KUBOTA, Hiroshi; MORIKAWA, Keiko; FUJIKI, Takako; KUNIHICO, Ikuko; MUKAI, Yasushi; HIRAKAWA, Yoji; TAKESHITA, Akira. Hydrogen peroxide is an endothelium-derived

hyperpolarizing factor in human mesenteric arteries. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 290, p. 909-913, 2002.

MCKAY, Mary K.; HESTER, Robert L. Role of nitric oxide, adenosine, and ATP-sensitive potassium channels in insulin-induced vasodilation. **Hypertension**, v. 28, p. 202-208, 1996.

MEIJER, Rick I.; BAKKER, Wineke; ALTA, Caro-Lynn AF.; SIPKEMA, Pieter; YUDKIN, John S.; VIOLLET, Benoit; RICHTER, Erik A.; SMULDERS, Yvo M.; VAN HINSBERGH, Victor WM.; SERNÉ, Erik H.; ERINGA, Etto C. Perivascular adipose tissue control of insulin-induced vasoreactivity in muscle is impaired in db/db mice. **Diabetes**, v. 62, p. 590-598, 2013.

MOOS, Michael PW.; JOHN, Nicole; GRÄBNER, Rolf; NOBMANN, Bernd; VOLLANDT, Rüdiger; FUNK, Colin D.; KAISER, Brigitte; HABENICHT, Andreas JR. The lamina adventitia is the major site of immune cell accumulation in standard chow-fed apolipoprotein E-deficient mice. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 25, p. 2386-2391, 2005.

MURRAY, Christopher JL. Health effects of dietary risks in 195 countries, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. **Lancet**, v. 393, p. 1958-1972, 2019.

PALMER, Richard MJ.; FERRIGE, AG.; MONCADA, Salvador. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. **Nature**, v. 327, p. 524-526, 1987.

PALMER, Richard MJ.; ASHTON, DS.; MONCADA, S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. **Nature**, v. 333, p. 664-666, 1988.

PARK, So-Young; CHO, You-Ree; KIM, Hyo-Jeong; HIGASHIMORI, Takamasa; DANTON, Cheryl; LEE, Mi-Kyung; DEY, Asim; ROTHERMEL, Beverly; KIM, Young-Bum; KALINOWSKI, April; RUSSELL, Kerry S.; KIM, Jason K. Unraveling the temporal pattern of diet-induced insulin resistance in individual organs and cardiac dysfunction in C57BL/6 mice. **Diabetes**, v. 54, p. 3530-3540, 2005.

PASQUINELLI, Amy E.; REINHART, Brenda J.; SLACK, Frank; MARTINDALE, Mark Q.; KURODA, Mitzi I.; MALLER, Betsy; HAYWARD, David C.; BALL, Eldon E.; DEGNAN, Bernard; MÜLLER, Peter; SPRING, Jürg; SRINIVASAN, Ashok; FISHMAN, Mark; FINNERTY, John; CORBO, Joseph; LEVINE, Michael; LEAHY, Patrick; DAVIDSON, Eric; RUVKUN, Gary. Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA. **Nature**, v. 408, p. 86-89, 2000.

PUGSLEY, MK.; TABRIZCHI, R. The vascular system: An overview of structure and function. **Journal of pharmacological and toxicological methods**, v. 44, p. 333-340, 2000.

QUEEN, Lindsay R.; JI, Young; XU, Biao; YOUNG, Lora; YAO, Kang; WYATT, Amanda W.; ROWLANDS, David J.; SIOW, Richard CM.; MANN, Giovanni E.; FERRO, Albert. Mechanisms underlying  $\beta$ 2-adrenoceptor-mediated nitric oxide generation by human umbilical vein endothelial cells. **The Journal of physiology**, v. 576, p. 585-594, 2006.

REINHART, Brenda J.; SLACK, Frank J.; BASSON, Michael; PASQUINELLI, Amy E.; BETTINGER, Jill C.; ROUGVIE, Ann E.; HORVITZ, Robert; RUVKUN, Gary. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. **Nature**, v. 403, p. 901-906, 2000.

REIS COSTA, Daniela EF.; SILVEIRA, Ana LM; CAMPOS, Gianne P.; NÓBREGA, Natália RC.; ARAÚJO, Natália F.; BORGES, Luciano F.; CAPETTINI, Luciano SA.; FERREIRA, Adaliene VM.; BONAVENTURA, Daniella. High-carbohydrate diet enhanced the anticontractile effect of perivascular adipose tissue through activation of renin-angiotensin system. **Frontiers in Physiology**, v. 11, p. 1835, 2021.

SCHWARZ, Petra M.; KLEINERT, Hartmut; FÖRSTERMANN, Ulrich. Potential functional significance of brain-type and muscle-type nitric oxide synthase I expressed in adventitia and media of rat aorta. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 19, p. 2584-2590, 1999.

SILVA, Tábatha O.; LINO, Caroline A.; BUZATTO, Vanessa C.; ASPRINO, Paula F.; LU, Yao W.; LIMA, Vanessa M.; FONSECA, Renata IB.; JENSEN, Leonardo; MURATA, Gilson M.; FILHO, Sidney V.; RIBEIRO, Márcio AC.; DONATO, José; FERREIRA, Julio CB.; RODRIGUES, Alice C.; IRIGOYEN, Maria C.; BARRETO-CHAVES, Maria LM.; HUANG, Zhan-Peng; GALANTE, Pedro AF.; WANG, Da-Zhi; DINIZ, Gabriela P. Deletion of miRNA-22 induces cardiac hypertrophy in females but attenuates obesogenic diet-mediated metabolic disorders. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 54, p. 1199-217, 2020.

SOLTIS, Edward E.; CASSIS, Lisa A. Influence of perivascular adipose tissue on rat aortic smooth muscle responsiveness. **Clinical and Experimental Hypertension. Part A: Theory and Practice**, v. 13, p. 277-296, 1991.

STROES, E.; HIJMERING, M.; VAN ZANDVOORT, M.; WEVER, R.; RABELINK, TJ.; VAN FAASSEN, EE. Origin of superoxide production by endothelial nitric oxide synthase. **FEBS letters**, v. 438, p. 161-164, 1998.

SUN, Hai-Xiang; ZENG, De-Yi; LI, Ruo-Tian; PANG, Rui-Ping; YANG, Hui; HU, Ya-Li; ZHANG, Qun; JIANG, Yue; HUANG, Lin-Yan; TANG, Yong-Bo; YAN, Gui-Jun; ZHOU, Jia-Guo. Essential role of microRNA-155 in regulating endothelium-dependent vasorelaxation by targeting endothelial nitric oxide synthase. **Hypertension**, v. 60, p. 1407-1414, 2012.

THAKKER, Geeta D.; FRANGOIANNIS, Nikolaos G.; BUJAK, Marcin; ZYMEK, Paul; GAUBATZ, John W.; REDDY, Anilkumar K.; TAFFET, George; MICHAEL, Lloyd H.; ENTMAN, Mark L.; BALLANTYNE, Christie M. Effects of diet-induced obesity on inflammation and remodeling after myocardial infarction. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 291, p. 2504-2514, 2006.

TRACEY, WR.; PEACH, MJ. Differential muscarinic receptor mRNA expression by freshly isolated and cultured bovine aortic endothelial cells. **Circulation research**, v. 70, p. 234-240, 1992.



TROISI, Rebecca J.; WEISS, Scott T.; PARKER, Donna R.; SPARROW, David; YOUNG, James B.; LANDSBERG, Lewis. Relation of obesity and diet to sympathetic nervous system activity. **Hypertension**, v. 17, p. 669-677, 1991.

VANHOUTTE, Paul M.; BOULANGER, Chantal M. Endothelium-dependent responses in hypertension. **Hypertension Research**, v. 18, p. 87-98, 1995.

VANHOUTTE, Paul M.; SHIMOKAWA, H.; FELETOU, M.; TANG, EHC. Endothelial dysfunction and vascular disease—a 30th anniversary update. **Acta physiologica**, v. 219, p. 22-96, 2017.

VICTORIO, Jamaira A.; CLERICI, Stefano P.; PALACIOS, Roberto; ALONSO, María J.; VASSALLO, Dalton V.; JAFFE, Iris Z.; ROSSONI, Luciana V.; Davel, Ana P. Spironolactone prevents endothelial nitric oxide synthase uncoupling and vascular dysfunction induced by  $\beta$ -adrenergic overstimulation: role of perivascular adipose tissue. **Hypertension**, v. 68, p. 726-735, 2016.

VIGITEL. Vigitel Brasil 2019 - Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: Estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2019. 2020. Disponível em:

<[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel\\_brasil\\_2019\\_vigilancia\\_fatores\\_risco.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel_brasil_2019_vigilancia_fatores_risco.pdf)> Acesso em: 03 nov 2021

WEBB, R. Clinton. Smooth muscle contraction and relaxation. **Advances in physiology education**, v. 27, p. 201-206, 2003.

WHO. Obesity and overweight. 2021. Disponível em: <<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>> Acesso em: 03 nov 2021

XIA, Ning; HORKE, Sven; HABERMEIER, Alice; CLOSS, Ellen I.; REIFENBERG, Gisela; GERICKE, Adrian; MIKHED, Yuliya; MÜNZEL, Thomas; DAIBER, Andreas; FÖRSTERMANN, Ulrich; LI, Huige. Uncoupling of endothelial nitric oxide synthase in perivascular adipose tissue of diet-induced

obese mice. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 36, p. 78-85, 2016.

XIN, Mei; SMALL, Eric M.; SUTHERLAND, Lillian B.; QI, Xiaoxia; MCANALLY, John; PLATO, Craig F.; RICHARDSON, James A.; BASSEL-DUBY, Rhonda; OLSON, Eric N. MicroRNAs miR-143 and miR-145 modulate cytoskeletal dynamics and responsiveness of smooth muscle cells to injury. **Genes & development**, v. 23, p. 2166-2178, 2009.

XU, Dan; TAKESHITA, Fumitaka; HINO, Yumiko; FUKUNAGA, Saori; KUDO, Yasusei; TAMAKI, Aya; MATSUNAGA, Junko; TAKAHASHI, Ryou-u; TAKATA, Takashi; SHIMAMOTO, Akira; OCHIYA, Takahiro; TAHARA, Hidetoshi. miR-22 represses cancer progression by inducing cellular senescence. **Journal of Cell Biology**, v. 193, p. 409-424, 2011.

YADA, Toyotaka; SHIMOKAWA, Hiroaki; HIRAMATSU, Osamu; KAJITA, Tatsuya; SHIGETO, Fumiyuki; GOTO, Masami; OGASAWARA, Yasuo; KAJIYA, Fumihiko. Hydrogen peroxide, an endogenous endothelium-derived hyperpolarizing factor, plays an important role in coronary autoregulation in vivo. **Circulation**, v. 107, p. 1040-1045, 2003.

YANG, Feng; CHEN, Qishan; HE, Shiping; YANG, Mei; MAGUIRE, Eithne M.; AN, Weiwei; AFZAL, Tayyab A.; LUONG, Le A.; ZHANG, Li; XIAO, Qingzhong. miR-22 is a novel mediator of vascular smooth muscle cell phenotypic modulation and neointima formation. **Circulation**, v. 137, p. 1824-1841, 2018.

YI, Rui; QIN, Yi; MACARA, Ian G.; CULLEN, Bryan R. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. **Genes & development**, v. 17, p. 3011-3016, 2003.

YIANNIKOURIS, Frederique; GUPTA, Manisha; PUTMAN, Kelly; THATCHER, Sean; CHARNIGO, Richard; RATERI, Debra L.; DAUGHERTY, Alan; CASSIS, Lisa A. Adipocyte deficiency of angiotensinogen prevents obesity-induced hypertension in male mice. **Hypertension**, v. 60, p. 1524-1530, 2012.

ZAMAN, Tarikuz AKM.; FUJII, Satoshi; SAWA, Hirotsumi; GOTO, Daisuke; ISHIMORI, Naoki; WATANO, Keiko; KANEKO, Takeaki; FURUMOTO, Tomoo;

SUGAWARA, Taeko; SAKUMA, Ichiro; KITABATAKE, Akira; SOBEL, Burton E. Angiotensin-converting enzyme inhibition attenuates hypofibrinolysis and reduces cardiac perivascular fibrosis in genetically obese diabetic mice. **Circulation**, v. 103, p. 3123-3128, 2001.

ZHAO, Hanqing; WEN, Guanmei; HUANG, Yuan; YU, Xiaotian; CHEN, Qishan; AFZAL, Tayyab A.; LUONG, Le A.; ZHU, Jianhua; YE, Shu; ZHANG, Li; XIAO, Qingzhong. MicroRNA-22 regulates smooth muscle cell differentiation from stem cells by targeting methyl CpG-binding protein 2. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 35, p. 918-929, 2015.

ZOU, Yanan; CHEN, Zixuan; JENNINGS, Brett L.; ZHAO, Guannan; GU, Qingqing; BHATTACHARYA, Anindya; CUI, Yan; YU, Bo; MALIK, Kafait U.; YUE, Junming. Deletion of DGCR8 in VSMCs of adult mice results in loss of vascular reactivity, reduced blood pressure and neointima formation. **Scientific reports**, v. 8, p. 1-9, 2018.