Faculdade de Medicina
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia

Luciane Moretto

# Investigação do papel dos RNAs não-codificantes longos na retinopatia diabética

Porto Alegre
2026

Luciane Moretto

# Investigação do papel dos RNAs não-codificantes longos na retinopatia diabética

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do título de mestra em Endocrinologia pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Profª. Drª. Daisy Crispim Moreira.

Co-orientadora: Profª. Drª. Cristine Dieter.

Porto Alegre

2026

CIP - Catalogação na Publicação

Moretto, Luciane
Investigação do papel dos RNAs não-codificantes longos na retinopatia diabética / Luciane Moretto. -- 2026.
78 f.
Orientadora: Daisy Crispim Moreira.

Coorientadora: Cristine Dieter.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Porto Alegre, BR-RS, 2026.

1. RNA Longo não Codificante. 2. Retinopatia Diabética. 3. Revisão Sistemática. I. Moreira, Daisy Crispim, orient. II. Dieter, Cristine, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Luciane Moretto

**Investigação do papel dos RNAs não-codificantes longos na retinopatia diabética**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do título de mestra em Endocrinologia pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
Orientadora: Profª. Drª. Daisy Crispim Moreira.
Co-orientadora: Profª. Drª. Cristine Dieter.

Aprovada em: 05/03/2026

BANCA EXAMINADORA:

Dra.: Natália Emerim Lemos
USP/SP

Dr.: Igor Araujo Vieira
Unisinos/RS

Dr..: Luis Henrique Canani
UFRGS/RS

Aos que acreditam na ciência, no amor e na paz.
Àqueles que veem no conhecimento um
instrumento de cuidado,
no amor uma força que sustenta a caminhada,
e na paz um compromisso ético com o presente e
o futuro.
Que a ciência siga sendo feita com rigor,
sensibilidade e humanidade.

## AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus pais, Ivete Alessio Moretto e Luciano Moretto, por sempre acreditarem que a educação transforma o mundo e por todo o amor, apoio e incentivo incondicionais. Vocês são minhas maiores inspirações, a quem dedico meu mais profundo carinho, amor e admiração.

Aos meus avós, que sempre me educaram, transmitiram saberes e ensinaram o valor do cuidado com a família.

À Odete, que sempre acreditou no meu saber e no meu trabalho, e que, ao longo de toda a sua trajetória, superou as adversidades com coragem e amor ao próximo. Sua presença e inspiração permanecem conosco; sentimos profundamente a sua falta.

À minha orientadora, Daisy Crispim Moreira, por acreditar no meu trabalho e por me conceder, desde a graduação, a oportunidade de fazer ciência, contribuindo de forma decisiva para minha formação acadêmica e científica. Toda minha admiração.

À minha coorientadora, Cristine Dieter, por todo o cuidado, apoio e aconselhamento ao longo dessa jornada, sendo referência acadêmica e humana.

À Eliandra Girardi e Anna C. M. Vieira, pela colaboração, generosidade e compartilhamento de conhecimento durante todo o percurso.

Aos colegas do Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pela troca constante de aprendizados e pela convivência enriquecedora.

Ao Leonardo Farias Reinoso, pelo acolhimento, incentivo e amor ao longo dessa caminhada.

Aos amigos e familiares, pelo apoio, incentivo, compreensão e pela troca de saberes ao longo dos anos.

A todos os cientistas que me precederam, especialmente às mulheres, cujas descobertas, dedicação e coragem abriram caminhos e inspiraram minha trajetória na ciência.

À CAPES, CNPq, FAPERGS e FIPE-HCPA, pelo apoio financeiro fundamental para a realização deste trabalho.

A todos que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização deste trabalho.

“Nada na vida deve ser temido, apenas compreendido. Agora é hora de compreender mais para temer menos”

*Marie Curie*

## RESUMO

A retinopatia diabética (RD) é a doença vascular retiniana mais comum e a principal causa de deficiência visual irreversível e cegueira em todo o mundo. Além disso, após 15 anos de duração do diabetes mellitus (DM), quase todos os pacientes desenvolvem algum grau de RD, acometendo 3 em cada 4 indivíduos. Estima-se que mais de 10% daqueles com algum grau de RD correm o risco de perda de visão ou já a perderam. A RD resulta da interação entre fatores de risco clássicos, como a duração do DM e controle metabólico inadequado, com fatores genéticos e epigenéticos. Neste contexto, tem sido demonstrado que modificações epigenéticas podem alterar a expressão gênica em resposta a estímulos ambientais, potencialmente modificando o risco de desenvolvimento de DM e da RD. Entre os mecanismos epigenéticos, destacam-se os RNAs não-codificantes longos (lncRNAs), uma classe de RNAs com mais de 200 nucleotídeos de comprimento, que regulam processos celulares relacionados ao desenvolvimento e progressão da RD. No entanto, os resultados encontrados ainda são inconclusivos. Dessa forma, a investigação da participação dos lncRNAs na patogênese da RD é de suma relevância e pode contribuir para o avanço no entendimento, diagnóstico e monitoramento da progressão da doença, além da identificação de novos alvos terapêuticos. Desse modo, o objetivo deste estudo foi investigar a associação entre lncRNAs e o desenvolvimento e progressão da RD por meio de uma revisão sistemática da literatura. Para isso, foi realizada uma busca nos repositórios PubMed, Embase e Gene Expression Omnibus (GEO), visando identificar estudos que comparassem a expressão diferencial em pacientes com RD (casos) *vs.* pacientes com DM sem complicações ou participantes saudáveis (controles). LncRNAs que apresentaram resultados consistentes em mais de 75% dos estudos foram classificados como consistentemente desregulados na RD. Foram encontrados 2877 estudos e, após a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, 67 estudos foram incluídos nessa revisão sistemática. Dentre esses estudos, 6 lncRNAs apresentaram desregulação consistente na RD proliferativa: *ANRIL*, *HOTAIR*, *MALAT1*, *MIAT* e *ZFAS1* estavam aumentados, enquanto *H19* estava diminuído. Na RD não-proliferativa, apenas *ANRIL*, *HOTAIR* e *MALAT1* apresentaram desregulação consistente, todos com expressão aumentada. Em conclusão, este estudo sintetizou as evidências disponíveis sobre lncRNAs diferencialmente expressos na RD, propiciando uma visão integrada do conhecimento atual e contribuindo para o aprofundamento da compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na patogênese dessa complicação.



**Palavras-chave:** lncRNAs, retinopatia diabética, revisão sistemática.

## ABSTRACT

Diabetic retinopathy (DR) is the most common retinal vascular disease and the leading cause of irreversible visual impairment and blindness worldwide. Additionally, after 15 years of diabetes mellitus (DM) duration, most patients develop some degree of diabetic retinopathy (DR), affecting approximately 3 out of 4 individuals. It is estimated that more than 10% of those with some degree of DR are at risk of vision loss or have already experienced it. DR results from the interaction of classical risk factors, such as DM duration and inadequate metabolic control, with genetic and epigenetic factors. In this context, epigenetic modifications have been shown to regulate gene expression in response to environmental stimuli, potentially influencing the risk of developing DM and DR. Among epigenetic mechanisms, long non-coding RNAs (lncRNAs) stand out as a class of non-coding RNAs longer than 200 nucleotides that regulate cellular processes related to the development and progression of DR. However, the available evidence remains inconclusive. Therefore, investigating the role of lncRNAs in the pathogenesis of DR is highly relevant and may contribute to advances in understanding, diagnosis, prognosis, and disease monitoring, as well as to the identification of new therapeutic targets. Thus, the aim of this study was to investigate the association between lncRNAs and the development and severity of DR through a systematic literature review. To this, systematic searches were conducted using the PubMed, Embase, and Gene Expression Omnibus (GEO) databases to identify studies evaluating lncRNA expression in patients with DR (cases) compared with patients with DM without chronic complications or healthy participants (controls). LncRNAs showing consistent results in more than 75% of studies were classified as consistently dysregulated in DR. A total of 2,877 studies were identified, and after applying the inclusion and exclusion criteria, 67 studies were included in the systematic review. Among these studies, 6 lncRNAs were observed to be consistently dysregulated in proliferative DR: *ANRIL*, *HOTAIR*, *MALAT1*, *MIAT*, and *ZFAS1* were upregulated, whereas *H19* was downregulated. In non-proliferative DR, only *ANRIL*, *HOTAIR*, and *MALAT1* were consistently dysregulated, all showing upregulation. In conclusion, this study synthesizes the available evidence on lncRNAs differentially expressed in DR, providing an integrated overview of current knowledge and contributing to a deeper understanding of the molecular mechanisms involved in the pathogenesis of this complication.



**Keywords:** lncRNAs, diabetic retinopathy, systematic review.

**SUMÁRIO**

**1 INTRODUÇÃO** ..... **10**
1.1 RETINOPATIA DIABÉTICA ..... 11
**1.1.1 Epigenética da retinopatia diabética** ..... **14**
**2 JUSTIFICATIVA** ..... **20**
**3 OBJETIVOS** ..... **21**
3.1 OBJETIVO GERAL ..... 21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS ..... 21
**REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO** ..... **20**
**4 ARTIGO CIENTÍFICO** ..... **24**
**5 CONSIDERAÇÕES FINAIS** ..... **68**
**OUTRAS PRODUÇÕES NO PERÍODO DO MESTRADO** ..... **69**

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, o diabetes mellitus (DM) representa um sério e crescente problema de saúde pública, em razão do aumento contínuo da sua prevalência na população [1]. Dados da Federação Internacional de Diabetes (*International Diabetes Federation* - IDF) indicam que cerca de 588,7 milhões de adultos convivem com algum tipo de DM em escala global [2]. Caso a tendência de aumento se mantenha, esse número poderá chegar a 643 milhões de indivíduos até 2030 e 852,5 milhões em 2050 [2]. No Brasil, cerca de 16,6 milhões de indivíduos são afetados por algum tipo de DM, com projeção de aumento para aproximadamente 24 milhões até o ano de 2050 [2].

O DM engloba um grupo de distúrbios metabólicos caracterizados por hiperglicemia crônica, resultante de defeitos na secreção da insulina, na sua ação ou na combinação de ambos os mecanismos [1]. O DM é classificado em diversas categorias, sendo os mais comuns o DM tipo 1 (DM1) e o DM tipo 2 (DM2) [1]. O DM1 corresponde a aproximadamente 10% dos casos de DM e se manifesta inicialmente em crianças e adolescentes, embora possa surgir em qualquer faixa etária [1]. Este tipo de DM é causado pela destruição autoimune das células-β pancreáticas produtoras de insulina, levando à deficiência total na secreção de insulina [1]. Consequentemente, os indivíduos afetados necessitam de administração de insulina exógena para a sobrevivência [1]. O DM2 representa cerca de 90 a 95% dos casos de DM no mundo [1]. Diferentemente do DM1, no DM2 não ocorre a destruição autoimune das células-β [1]. Esse tipo de DM caracteriza-se pela perda da capacidade das células do corpo de responder adequadamente à insulina, condição denominada resistência periférica à ação da insulina [1]. Como consequência, incialmente há um aumento da produção de insulina, que, com o tempo, torna-se insuficiente devido à incapacidade das células-β de sustentar a elevada demanda metabólica, resultando em insuficiência relativa de insulina e hiperglicemia crônica [1].

A hiperglicemia crônica associada ao DM frequentemente acompanha danos, disfunções e falhas de vários órgãos e tecidos, especialmente rins, olhos, nervos, coração e vasos sanguíneos, causando as chamadas complicações crônicas do DM [1]. Estas complicações são divididas em microvasculares [doença renal do diabetes (DRD), retinopatia diabética (RD) e neuropatia diabética] e macrovasculares (doença renal coronariana, doença vascular periférica e acidente vascular cerebral) [1]. Seu desenvolvimento está associado com maior morbimortalidade [1]. Além disso, também se agrega a uma piora da qualidade de vida dos pacientes [1]. De uma forma geral, a presença dessas complicações depende do tempo de DM, da idade do paciente, da hipertensão arterial sistêmica (HAS), da dislipidemia, bem como da intensidade e da persistência da hiperglicemia [3, 4]. No entanto, nem todos pacientes desenvolvem tais complicações, o que evidencia o papel da suscetibilidade genética do paciente ao tipo de complicação e a gravidade [3, 4].

## 1.1 RETINOPATIA DIABÉTICA

A RD é a doença vascular da retina mais comum e a principal causa de novos casos de cegueira em adultos com idade entre 20 e 65 anos [5, 6]. Além disso, após 15 anos de duração de DM, acomete 3 em cada 4 pacientes [5]. No Brasil, um estudo recente encontrou uma prevalência de 36,28% de RD em indivíduos com DM1 e DM2 das cinco regiões do país [7]. Na região Sul, este estudo revelou uma prevalência ainda maior, de 42,68%, superior às demais regiões do país [7].

Atualmente, o sistema de classificação de RD mais utilizado para sua identificação é a "Escala de Gravidade de Doença Retinopatia Diabética", baseada nos resultados do Estudo de Tratamento Precoce da Retinopatia Diabética (ETDRS) e do *Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy* (WESDR) [8] (**Tabela 1)**. Assim, a RD pode ser classificada clinicamente em dois estágios principais, sendo estes a RD não-proliferativa (RDNP) e a RD proliferativa

(RDP) [8]. A RDNP ocorre nos estágios iniciais da RD e pode ser classificada de acordo com os níveis de gravidade da doença e seus achados fundoscópicos em leve, moderada e grave [8]. Na RDNP de grau leve observa-se apenas o desenvolvimento de microaneurismas, com risco de progressão muito baixa [8]. Na RDNP moderada, há a presença de microaneurismas de forma mais extensa, mas ainda menos do que na RDNP grave, e a progressão de risco aumenta significativamente [8]. Na RDNP grave, observam-se hemorragias intrarretinianas em mais de 20 por quadrante em cada um dos quatro quadrantes, veias em rosário em dois ou mais quadrantes e anormalidade microvascular intrarretiniana presente em pelo menos um quadrante, sem sinal de proliferação [8]. Essa fase grave da RDNP representa um estágio de alto risco para a forma proliferativa [8]. À medida que a doença progride, os pacientes podem desenvolver a RDP, estágio final caracterizado pela presença de neovascularização e pode ser acompanhada de hemorragia vítrea ou pré-retiniana [8]. A distinção crítica entre a RDNP e a RDP é a presença de neovascularização ocular [8]. As fases da RD e seus achados estão ilustrados na **Figura 1.**

**Tabela 1** – Classificação internacional da severidade da retinopatia diabética (RD).

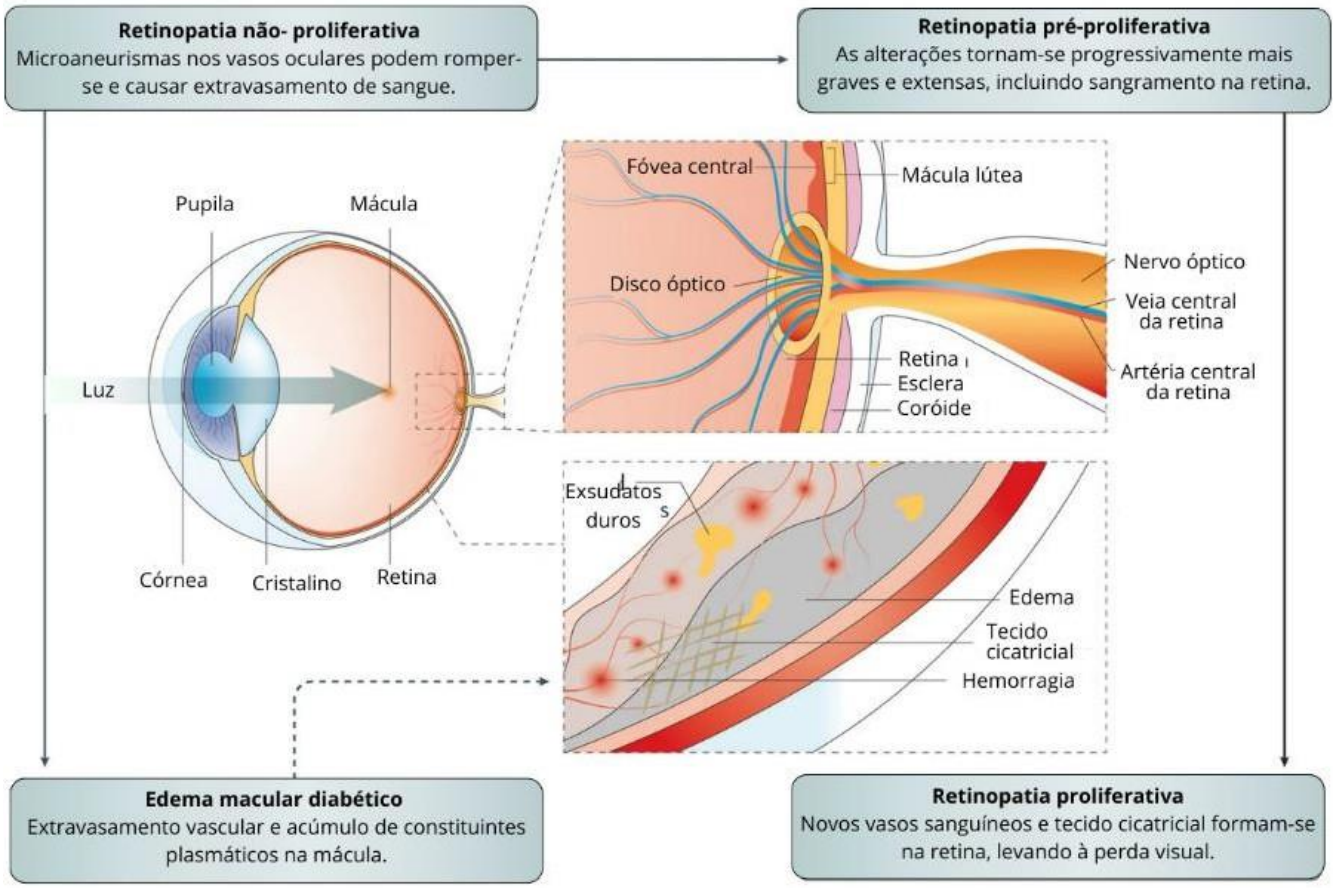
| **Severidade da RD** | **Achados oftalmoscópicos sobre midríase** |
|---|---|
| Ausência de RD aparente | Ausência de anormalidades. |
| RDNP leve | Apenas microaneurismas. |
| RDNP moderada | Mais que apenas microaneurismas, mas menos que RDNP grave. |
| RDNP grave | Sem sinais de RDP, com qualquer um dos achados abaixo:<br>- Mais de 20 hemorragias intrarretinianas em cada um dos quatro quadrantes;<br>- Veias em rosário em pelo menos 2 quadrantes; |

| Severidade da RD | Achados oftalmoscópicos sobre midríase |
|---|---|
| | - Anormalidades microvasculares intrarretinianas em pelo menos um quadrante. |
| RDP | Qualquer dos achados abaixo:<br>- Neovascularização;<br>- Hemorragia vítrea ou pré-retiniana. |

Fonte: Adaptado de Wilkinson *et al*. [8].

Além disso, alguns achados clínicos e laboratoriais, como níveis de glicemia em jejum e hemoglobina glicada e avaliação oftalmológica, são marcadores cruciais na estratificação do risco e no monitoramento da RD [10]. De forma geral, os principais fatores de risco para o desenvolvimento e progressão da RD incluem o tempo de duração de DM, tabagismo, HAS, controle glicêmico inadequado, dislipidemia e sobrepeso e obesidade [11]. Entretanto, nos últimos anos tem se reconhecido que, além desses fatores de risco clássicos, fatores genéticos e epigenéticos também exercem um papel relevante na suscetibilidade à RD e na sua progressão, abrindo novas perspectivas de compreensão de seus mecanismos [12-16].

**Figura 1 – Estágios clínicos da retinopatia diabética**




A RDNP corresponde ao estágio inicial identificável em à fundoscopia, variando de leve a grave, e é caracterizada por microaneurismas, hemorragias intrarretinianas e exsudatos, podendo apresentar áreas de não perfusão capilar e oclusão capilar. O edema macular diabético pode ocorrer quando o extravasamento acomete a mácula. À medida que a doença progride, desenvolve-se a RDP, estágio final, marcada por neovascularização e associada com risco de hemorragia vítrea, de proliferação fibrovascular e de descolamento de retina, principais causas de perda visual grave.
Fonte: Adaptado de Wong, T. Y. *et al*. (2016) [17].

### 1.1.1 Epigenética da retinopatia diabética

Sabe-se que o controle glicêmico dos pacientes com DM está muito relacionado com o desenvolvimento ou não das complicações crônicas desta doença. Entretanto, há um subgrupo de pacientes com DM que jamais desenvolve RD mesmo tendo um controle metabólico inadequado. Em contraposição, existem indivíduos que desenvolvem essa complicação apesar de terem suas glicemias rigidamente controladas. Esses achados evidenciam que, além dos

fatores de risco ambientais clássicos já mencionados anteriormente, existe também um forte componente epigenético influenciando no desenvolvimento dessa complicação [15, 16].

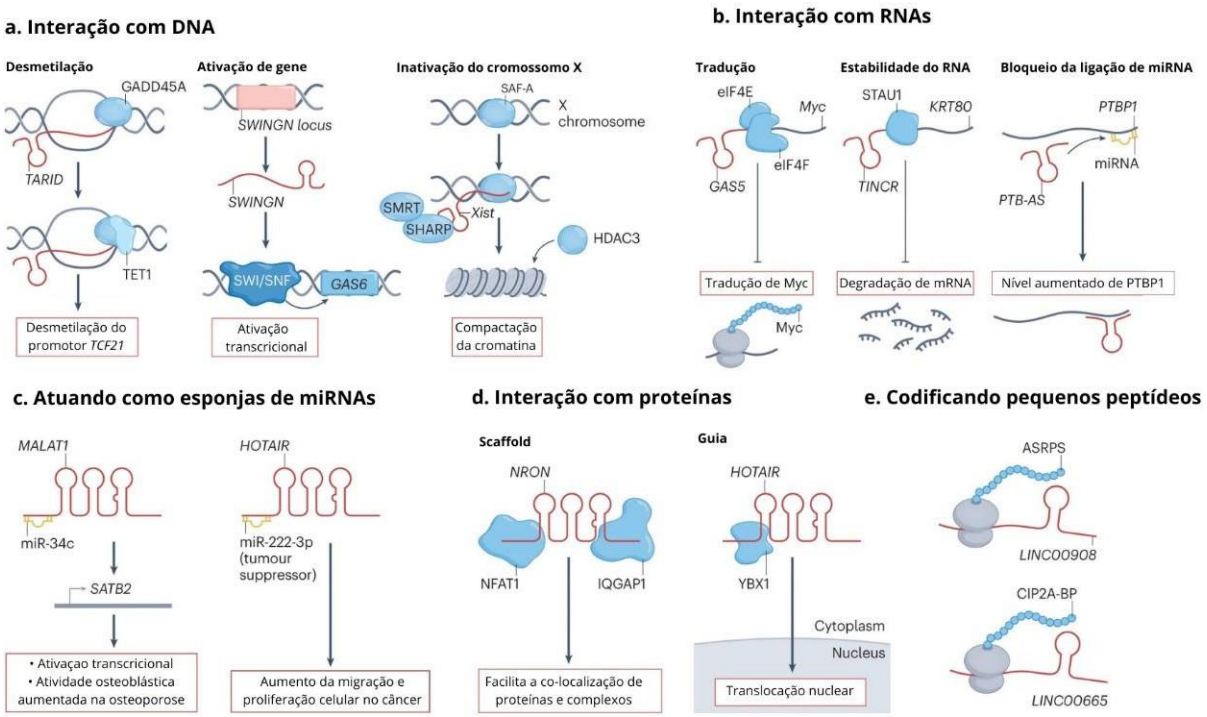
O termo epigenética refere-se a alterações hereditárias que ocorrem na expressão e/ou função do gene sem uma alteração na sequência de DNA [18]. As modificações epigenéticas podem alterar a expressão gênica em resposta a estímulos ambientais, podendo assim modificar o risco para o desenvolvimento de DM e RD [16]. Entre os mecanismos epigenéticos estão as modificações de histonas, a metilação do DNA e os RNAs não-codificantes (ncRNAs). Os ncRNAs são divididos em duas categorias com base no tamanho: os ncRNAs pequenos, que incluem os microRNAs (miRNAS), e os RNAs não-codificantes longos (lncRNAs) [15].

Os lncRNAs são definidos como transcritos de RNA com mais de 200 nucleotídeos que, em geral, não são traduzidos em proteínas [19]. Embora a maioria dos lncRNAs ainda não tenha sua função claramente estabelecida, muitos já foram associados a funções regulatórias e/ou estruturais em diferentes contextos celulares [20]. Os lncRNAs podem modular a expressão gênica, incluindo transcrição, *splicing*, degradação e ligação da cromatina e a tradução, desempenhando um papel importante em processos fisiológicos e fisiopatológicos envolvidos em diversas doenças [19-21].

Além disso, os lncRNAs localizam-se tanto no núcleo quanto no citoplasma, exercendo as mais diversas funções em praticamente todos os níveis organizacionais do genoma ao interagir com DNA, RNA e proteínas, atuando como moduladores epigenéticos e transcricionais [22]. Esses mecanismos incluem a formação de estruturas como: sinalizadores, *scaffold* (plataformas de ancoragem), guias (direcionando proteínas para alvos específicos) e *decoy (*como espécies de iscas moleculares, que competem por ligações com miRNAs ou fatores regulatórios) [23]. No núcleo, lncRNAs participam da remodelação da cromatina via interações com proteínas, formando *loops* cromatínicos que conectam promotores a regiões regulatórias distais, modulando a expressão gênica em cis ou em trans [23]. No citoplasma,

funcionam como “esponjas” que sequestram miRNAs por meio de sítios de ligação complementares, impedindo sua ligação aos mRNAs alvos, consequentemente reduzindo a disponibilidade dos miRNAs para reprimir a tradução proteica e levando ao aumento da expressão gênica [20]. As diversas funções dos lncRNAs, incluindo nucleares e citoplasmáticas, são ilustradas na **Figura 2**.

**Figura 2 – Funções dos lncRNAs**




(a) No núcleo, interagem diretamente com o DNA formando estruturas de alça R ou participando de complexos com proteínas de ligação à cromatina, influenciando o estado epigenético e a expressão gênica. Exemplos incluem o recrutamento de TET1 mediado por *TARID*–GADD45A, a modulação da atividade do complexo SWI/SNF por *SWINGN* e o silenciamento cromossômico induzido por Xist via recrutamento do complexo SHARP–SMRT–HDAC3. (b) Alguns lncRNAs regulam a estabilidade, a tradução e a ligação de mRNAs, como *GAS5*, que inibe a tradução de Myc ao interagir com eIF4E, e *PTB-AS*, que estabiliza *PTBP1* bloqueando sítios de ligação de miRNAs. (c) No citoplasma, diversos lncRNAs atuam como esponjas de miRNAs, impedindo sua ligação aos mRNAs-alvo, como *MALAT1*, que regula positivamente *SATB2* ao sequestrar *miR-34c*, e *HOTAIR*, que interage com *miR-222-3p* promovendo progressão tumoral. (d) As interações lncRNA–proteína são cruciais para a dinâmica celular, como demonstrado pela ancoragem de cinases NFAT1 por NRON e pela ligação de *HOTAIR* a YBX1, modulando sua localização nuclear. (e) Alguns lncRNAs exibem potencial traducional, originando micropeptídeos funcionalmente ativos, como *LINC00665*, que codifica um micropeptídeo associado à proteína CIP2A.
Fonte: Adaptado de Nemeth, K. *et al*. 2023 [21].

A expressão dos lncRNAs é extremamente específica do tipo celular e é frequentemente desregulada em estados de doença [24]. Diante disso, estudos vêm demonstrando que os

lncRNAs estão desregulados na patogênese e no desenvolvimento de diferentes doenças oculares, como a RD [11, 25, 26].

No cenário do papel dos lncRNAs no desenvolvimento da RD, um estudo que avaliou a expressão de um perfil de lncRNAs, através de *microarray*, em células endoteliais da retina de pacientes com e sem RDP, observou o aumento da expressão do lncRNA *HOTAIR* na retina dos grupos com RD em comparação aos controles [27]. Este lncRNA estaria mediando a angiogênese e outras alterações patológicas da RD através de mecanismos epigenéticos complexos, podendo ser um potencial biomarcador para esta complicação [27]. Do mesmo modo, Yan *et al.* avaliaram a expressão de um perfil de lncRNAs em retinas de camundongos com e sem DM, identificando 303 lncRNAs diferencialmente expressos, sendo 214 diminuídos e 89 aumentados nas retinas dos camundongos com DM [28]. Dentre estes lncRNAs, o *Malat1* é um dos lncRNAs altamente conservados em mamíferos e está expresso de forma aberrante nas retinas dos camundongos com DM [28]. Dessa forma, os autores avaliaram sua expressão em um modelo hiperglicêmico em células RF/6A, em amostras de humor aquoso e de membranas fibrovasculares de pacientes com DM e RD e descobriram que o *Malat1* foi regulado positivamente nessas células [28]. Eles concluíram que este lncRNA afeta a função fisiológica do tecido ocular, o tornando um possível biomarcador para o prognóstico e diagnóstico da RD [28].

Ji *et al.* avaliaram a expressão do lncRNA *NR2F1-AS1* em amostras de sangue de indivíduos com DM2 sem nenhuma complicação crônica, indivíduos com DM2 e RDNP e indivíduos com DM2 e RDP, revelando que este lncRNA tinha expressão aumentada no sangue dos pacientes com RDP em comparação aos controles, de forma mais acentuada do que os com RDNP, podendo servir como um marcador para DM2 e para RDP [29]. O estudo sugeriu que o *NR2F1-AS1* participa no desenvolvimento de RDP por promover o processo de transição endotelial-mesenquimal induzida por glicose em células endoteliais microvasculares da retina

humana, as quais podem se diferenciar em miofibroblastos no olho diabético e contribuir para a fibrose patológica na RDP [29].

Além disso, outro estudo avaliou a expressão do lncRNA *MEG3* no soro de pacientes com DM e RD, pacientes com DM sem RD e indivíduos saudáveis, demonstrando que a sua expressão foi significativamente mais baixa em pacientes com DM com e sem RD comparado aos indivíduos saudáveis [30]. Adicionalmente, sua expressão também foi mais baixa nos pacientes com DM e RD comparado aos com DM e sem RD [30]. Ainda, os autores demonstraram que a superexpressão de *Meg3* regulou negativamente a expressão do *VEGF* e *TGFB1* em células ARPE-19 (uma linhagem de células epiteliais pigmentares da retina humana) tratadas com níveis aumentados de glicose [30]. VEGF e TGFB1 são componentes cruciais para o desenvolvimento da RD, uma vez que VEGF promove a neovascularização retiniana e TGFB1 agrava a patogênese por hiperglicemia, estresse oxidativo e fibrose [30]. Dessa forma, os achados sugerem que a superexpressão de *MEG3* pode proteger contra o desenvolvimento da RD e pode servir como alvo promissor no tratamento dessa complicação [30].

Xia *et al.* demonstraram que a expressão do lncRNA *MCM3AP-AS1* no plasma foi significativamente menor nos pacientes com DM2 e RD comparado aos pacientes saudáveis e também foi menor nos pacientes com DM2 e RD comparado aos pacientes com DM2 sem RD [31]. Além disso, eles relataram que o *MCM3AP-AS1* pode interagir com o *miR-211*, que regula positivamente a proteína SIRT1, resultando na inibição da apoptose de células epiteliais pigmentares da retina humana tratadas com altos níveis de glicose. Dessa forma, o *MCM3AP-AS1* pode proteger a barreira hemato-retiniana vascular na RD [31].

Estes estudos sugerem que lncRNAs desempenham um papel importante na regulação de genes envolvidos na patogênese do DM e suas complicações crônicas. No entanto, no contexto específico da RD, o conhecimento atual carece de consolidação, uma vez que cada

estudo costuma investigar lncRNAs distintos, em diferentes modelos experimentais (*in vitro*, animais e humanos) e utilizando metodologias variadas.

## 2 JUSTIFICATIVA

A RD é uma das complicações microvasculares mais comuns do DM e é a principal causa de deficiência visual irreversível e cegueira no mundo. Após cerca de 15 anos de duração do DM, quase todos os pacientes apresentam algum grau de RD, afetando aproximadamente 3 em cada 4 indivíduos. Dessa forma, essa condição compromete significativamente a qualidade de vida e a produtividade dos indivíduos afetados, além de gerar elevados custos para o seu tratamento. Sendo assim, a elucidação das bases epigenéticas da RD é crucial para uma melhor compreensão da sua patogênese. Considerando que os lncRNAs parecem desempenhar um papel importante no desenvolvimento e progressão de diversas doenças, é evidente a necessidade de identificar lncRNAs associados à RD. Isso propiciaria uma compreensão mais aprofundada da patogênese dessa complicação, permitindo elucidar os mecanismos moleculares envolvidos em seu desenvolvimento e progressão, bem como contribuiria para a futura identificação de alvos terapêuticos

Neste contexto, embora alguns estudos indiquem um possível envolvimento dos lncRNAs no desenvolvimento da RD, os resultados ainda são inconclusivos e os mecanismos subjacentes das alterações na expressão dos lncRNAs ainda não foram totalmente elucidados, especialmente em humanos. Assim, a presente dissertação justifica-se pela necessidade de sintetizar as evidências sobre lncRNAs diferencialmente expressos na RD, propiciando uma visão integrada do conhecimento atual e contribuindo para a compreensão dos processos moleculares envolvidos na patogênese dessa complicação.

# 3 OBJETIVOS

## 3.1 OBJETIVO GERAL

- Investigar a associação entre a expressão de lncRNAs e a patogênese da RD, visando compreender sua contribuição para o desenvolvimento e a progressão da doença.

## 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar uma revisão sistemática da literatura avaliando a expressão de lncRNAs em pacientes com DM e RD comparado a pacientes com DM, mas sem esta complicação.
- Identificar, por meio da revisão sistemática, lncRNAs associados com os diferentes estágios de RD.

## REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO


1. American Diabetes Association Professional Practice, C., *2. Diagnosis and Classification of Diabetes: Standards of Care in Diabetes-2025.* Diabetes Care, 2025. **48**(1 Suppl 1): p. S27-S49.
2. Duncan, B.B., D.J. Magliano, and E.J. Boyko, *IDF Diabetes Atlas 11th edition 2025: global prevalence and projections for 2050.* Nephrol Dial Transplant, 2025. **41**(1): p. 7-9.
3. Carpena, M.P., et al., *Genetics of diabetic nephropathy.* Arq Bras Endocrinol Metabol, 2010. **54**(3): p. 253-61.
4. Correa-Giannella, M.L. and S.M. Vieira, *[Genetic susceptibility to microangiopathy development in Type 1 diabetes mellitus]*. Arq Bras Endocrinol Metabol, 2008. **52**(2): p. 375-86.
5. Fung, T.H., B. Patel, E.G. Wilmot, and W.M. Amoaku, *Diabetic retinopathy for the non-ophthalmologist.* Clin Med (Lond), 2022. **22**(2): p. 112-116.
6. Klein, B.E., *Overview of epidemiologic studies of diabetic retinopathy.* Ophthalmic Epidemiol, 2007. **14**(4): p. 179-83.
7. Chagas, T.A., et al., *Prevalence of diabetic retinopathy in Brazil: a systematic review with meta-analysis.* Diabetol Metab Syndr, 2023. **15**(1): p. 34.
8. Wilkinson, C.P., et al., *Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales.* Ophthalmology, 2003. **110**(9): p. 1677-82.
9. Shyam, M., et al., *Diabetic retinopathy: a comprehensive review of pathophysiology and emerging treatments.* Mol Biol Rep, 2025. **52**(1): p. 380.
10. Shukla, U.V. and K. Tripathy, *Diabetic Retinopathy*, in *StatPearls*. 2025: Treasure Island (FL).
11. Cataldi, S., et al., *Diabetic Retinopathy: Are lncRNAs New Molecular Players and Targets?* Antioxidants (Basel), 2022. **11**(10).
12. Cole, J.B. and J.C. Florez, *Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications.* Nat Rev Nephrol, 2020. **16**(7): p. 377-390.
13. Han, J., L. Lando, D. Skowronska-Krawczyk, and D.L. Chao, *Genetics of Diabetic Retinopathy.* Curr Diab Rep, 2019. **19**(9): p. 67.
14. Cabrera, A.P., et al., *Genotypes and Phenotypes: A Search for Influential Genes in Diabetic Retinopathy.* Int J Mol Sci, 2020. **21**(8).
15. Liu, D.D., et al., *Epigenetic modifications and metabolic memory in diabetic retinopathy: beyond the surface.* Neural Regen Res, 2023. **18**(7): p. 1441-1449.
16. Natarajan, R., *Epigenetic Mechanisms in Diabetic Vascular Complications and Metabolic Memory: The 2020 Edwin Bierman Award Lecture.* Diabetes, 2021. **70**(2): p. 328-337.
17. Wong, T.Y., et al., *Diabetic retinopathy.* Nat Rev Dis Primers, 2016. **2**: p. 16012.
18. Ling, C. and T. Ronn, *Epigenetics in Human Obesity and Type 2 Diabetes.* Cell Metab, 2019. **29**(5): p. 1028-1044.
19. Chodurska, B. and T. Kunej, *Long non-coding RNAs in humans: Classification, genomic organization and function.* Noncoding RNA Res, 2025. **11**: p. 313-327.
20. Statello, L., C.J. Guo, L.L. Chen, and M. Huarte, *Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions.* Nat Rev Mol Cell Biol, 2021. **22**(2): p. 96-118.
21. Nemeth, K., R. Bayraktar, M. Ferracin, and G.A. Calin, *Non-coding RNAs in disease: from mechanisms to therapeutics.* Nat Rev Genet, 2024. **25**(3): p. 211-232.

22. Mattick, J.S., et al., *Long non-coding RNAs: definitions, functions, challenges and recommendations.* Nat Rev Mol Cell Biol, 2023. **24**(6): p. 430-447.
23. Fang, Y. and M.J. Fullwood, *Roles, Functions, and Mechanisms of Long Non-coding RNAs in Cancer*. Genomics Proteomics Bioinformatics, 2016. **14**(1): p. 42-54.
24. Kaikkonen, M.U. and K. Adelman, *Emerging Roles of Non-Coding RNA Transcription.* Trends Biochem Sci, 2018. **43**(9): p. 654-667.
25. Liu, J. and X. Qu, *The roles of long non-coding RNAs in ocular diseases.* Exp Eye Res, 2021. **207**: p. 108561.
26. Gandhi, P., Y. Wang, G. Li, and S. Wang, *The role of long noncoding RNAs in ocular angiogenesis and vascular oculopathy.* Cell Biosci, 2024. **14**(1): p. 39.
27. Biswas, S., et al., *The Long Non-Coding RNA HOTAIR Is a Critical Epigenetic Mediator of Angiogenesis in Diabetic Retinopathy.* Invest Ophthalmol Vis Sci, 2021. **62**(3): p. 20.
28. Yan, B., et al., *Aberrant expression of long noncoding RNAs in early diabetic retinopathy*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014. **55**(2): p. 941-51.
29. Ji, X., J. Sun, and Z. Wang, *High level of lncRNA NR2F1-AS1 predict the onset and progression of diabetic retinopathy in type 2 diabetes.* Exp Eye Res, 2022. **219**: p. 109069.
30. Zhang, D., et al., *LncRNA MEG3 overexpression inhibits the development of diabetic retinopathy by regulating TGF-beta1 and VEGF*. Exp Ther Med, 2018. **16**(3): p. 2337-2342.
31. Xia, Z., et al., *LncRNA MCM3AP-AS1 is downregulated in diabetic retinopathy and promotes cell apoptosis by regulating miR-211/SIRT1*. Diabetol Metab Syndr, 2022. **14**(1): p. 73.
32. Tan, T.E. and T.Y. Wong, *Diabetic retinopathy: Looking forward to 2030.* Front Endocrinol (Lausanne), 2022. **13**: p. 1077669.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As principais conclusões deste estudo são:

- A revisão sistemática incluiu 67 estudos a partir dos 2877 estudos inicialmente identificados nas bases PubMed, Embase e GEO, sintetizando evidências sobre lncRNAs diferencialmente expressos na RD;
- Na RDP, 6 lncRNAs apresentaram desregulação consistente: *ANRIL*, *HOTAIR*, *MALAT1*, *MIAT* e *ZFAS1* estavam aumentados, enquanto *H19* estava diminuído em pacientes com DM e PDR em comparação aos controles;
- Na RDNP, *ANRIL*, *HOTAIR* e *MALAT1* estavam aumentados em pacientes com DM e RDNP em comparação aos controles;

Os resultados mostram que diversos lncRNAs apresentam expressão consistentemente alterada em pacientes com RDP e/ou RDNP *vs.* controles, sugerindo o envolvimento de lncRNAs no desenvolvimento e progressão da RD.

Como perspectivas futuras, sugere-se que os lncRNAs identificados sejam validados em coortes brasileiras de pacientes com DM. Para isso, pretende-se selecionar 5 lncRNAs candidatos (*ANRIL*, *HOTAIR*, *MALAT1*, *H19* e *MIAT*) para a avaliação da expressão gênica por qPCR no plasma de pacientes com DM com e sem RD e indivíduos sem DM. Espera-se encontrar diferenças significativas na expressão desses lncRNAs entre os grupos, podendo assim, associá-los ao desenvolvimento e à patogênese dessa complicação.

Em conclusão, este trabalho constitui uma revisão sistemática abrangente sobre o envolvimento dos lncRNAs na RD, fornecendo uma visão integrada do campo e destacando candidatos consistentes para pesquisas futuras. Os lncRNAs com desregulação consistente entre os estudos podem ser considerados potenciais biomarcadores de diagnóstico, prognóstico ou progressão, bem como possíveis alvos terapêuticos, uma vez que muitos deles atuam como reguladores epigenéticos envolvidos na patofisiologia e no desenvolvimento da RD.

# OUTRAS PRODUÇÕES NO PERÍODO DO MESTRADO

Artigos produzidos durante o período do mestrado como primeira autora, ou coautora.

original article

# The C allele of the rs741301 polymorphism in the *ELMO1* gene is associated with increased risk of diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes mellitus

Luciane Moretto[1,2]
https://orcid.org/0000-0002-7143-7440

Letícia de Almeida Brondani[3]
https://orcid.org/0000-0003-0837-2645

Eliandra Girardi[1]
https://orcid.org/0000-0003-4485-0202

Anna Carolina Meireles Vieira[1]
https://orcid.org/0009-0000-4901-5199

Natália Emerim Lemos[4]
https://orcid.org/0000-0002-0096-5801

Marilu Fiegenbaum[5]
https://orcid.org/0000-0002-5408-2078

Luís Henrique Canani[1,2]
https://orcid.org/0000-0002-1813-4491

Daisy Crispim[1,2]
https://orcid.org/0000-0001-5095-9269

Cristine Dieter[1,2]
https://orcid.org/0000-0003-2765-930X.

[1] Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil
[2] Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Faculdade de Medicina, Departamento de Clínica Médica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil
[3] Unidade de Pesquisa Laboratorial, Centro de Pesquisa Experimental, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil
[4] Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil
[5] Programa de Pós-graduação em Biociências, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil

## ABSTRACT

**Objective:** To investigate the association of the rs741301 polymorphism in the *ELMO1* gene with diabetic retinopathy (DR) in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Materials and methods:** This study analyzed 350 patients with T2DM and DR (cases) and 234 patients with T2DM without this complication but with more than 10 years of diabetes mellitus (DM) (controls). DR was diagnosed by indirect fundoscopy. Genotyping was performed by allelic discrimination real-time PCR. **Results:** The frequency of the C/C genotype of the rs741301 polymorphism in the *ELMO1* gene was 26.9% in cases and 17.9% in controls (P = 0.011). After adjustment for covariables, the C/C genotype was associated with an increased risk of DR [odds ratio (OR) = 1.805, 95%CI 1.101–2.961; P = 0.019]. This association remained significant in dominant and additive inheritance models after adjustment for the same variables [OR = 1.597, 95%CI 1.089-2.343; P = 0.017; and OR = 1.818, 95%CI 1.099-3.007; P = 0.020]. **Conclusion:** This study demonstrated an association between the presence of the C allele of the *ELMO1* rs741301 polymorphism and an increased risk of DR in patients with T2DM from Southern Brazil.

**Keywords**
Diabetic retinopathy; polymorphisms; *ELMO1*

**Correspondence to:**
Cristine Dieter
Rua Ramiro Barcelos, 2.350,
prédio 12, 4° andar
90035-003 – Porto Alegre, RS, Brasil
cdieter@hcpa.edu.br

Received on June/25/2024
Accepted on Sept/17/2024

DOI: 10.20945/2359-4292-2024-0283

## INTRODUCTION

Diabetic retinopathy (DR) is a major microvascular complication of diabetes mellitus (DM), affecting approximately one-third of patients with DM (1). Despite being insidious and asymptomatic in its early stages, DR can advance over the years, potentially leading to irreversible vision impairment (1,2). The development and progression of DR are influenced by a complex interplay of clinical, environmental, and genetic factors (2).

Among the genetic factors, several single nucleotide polymorphisms (SNPs) in different genes have been identified as associated with DR [reviewed in (3)]. In this context, SNPs in the *TGFB1* (4), *TIE2* (5), *ANGPT1* (5), and *BDKRB1* (6) genes were previously reported to be associated with protection against DR,

Copyright© AE&M all rights reserved

Archives of Endocrinology and Metabolism
ISSN 2359-4292
OFFICIAL JOURNAL OF THE BRAZILIAN SOCIETY OF ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM

Original

# The rs3844492/*ARHGAP22* and rs741301/*ELMO1* polymorphisms are associated with changes in laboratory markers of renal damage among patients with type 2 diabetes mellitus

Luciane Moretto[1,2] https://orcid.org/0000-0002-7143-7440
Letícia de Almeida Brondani[1,4] https://orcid.org/0000-0003-0837-2645
Marilu Fiegenbaum[3] https://orcid.org/0000-0002-5408-2078
Eliandra Girardi[1,3] https://orcid.org/0000-0003-4485-0202
Natália Emerim Lemos[5] https://orcid.org/0000-0002-0096-5801
Cristine Dieter[1,2] https://orcid.org/0000-0003-2765-930X
Anna Carolina Meireles Vieira[1,3] https://orcid.org/0009-0000-4901-5199
Luís Henrique Canani[1,2] https://orcid.org/0000-0002-1813-4491
Daisy Crispim[1,2] https://orcid.org/0000-0001-5095-9269

[1] Serviço de Endocrinologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil
[2] Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Faculdade de Medicina, Departamento de Medicina Interna., Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil
[3] Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil
[4] Unidade de Pesquisa Laboratorial, Centro de Pesquisa Experimental Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil
[5] Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

## ABSTRACT

**Objective:** To investigate the association between the rs3844492/*ARHGAP22* and rs741301/*ELMO1* polymorphisms and diabetic kidney disease in patients with type 2 diabetes mellitus. **Methods:** The sample consisted of 740 patients with type 2 diabetes mellitus and diabetic kidney disease (cases) and 303 patients with type 2 diabetes mellitus, but no diabetic kidney disease (controls). The genotyping of the polymorphisms was conducted using real-time polymerase chain reaction with Taqman probes. **Results:** The frequency of the rs3844492/ARHGAP22 G/G genotype was 16.8% in the control group and 15.7% in cases (p = 0.069). After adjusting for covariables, the presence of the G allele was associated with risk for diabetic kidney disease (OR = 1.435, 95% CI 1.023 – 2.011; p = 0.036), as well as with a decreased estimated glomerular filtration rate (p = 0.012) and elevated creatinine levels (p = 0.009). No difference was observed in the rs741301/ELMO1 genotype frequencies between groups (p = 0.800). However, the presence of the C allele appears to be associated with higher creatinine levels in patients with type 2 diabetes mellitus (p = 0.064). **Conclusion:** The rs3844492/*ARHGAP22* and rs741301/*ELMO1* polymorphisms are associated with alterations in renal function markers among patients with type 2 diabetes mellitus.

**Keywords:** Diabetes mellitus; Diabetic nephropathies; Polymorphism, genetic

## INTRODUCTION

Diabetic kidney disease (DKD) is an important microvascular complication, impacting 40% of patients with diabetes mellitus (DM) (1). Globally, it is recognized as the primary cause of chronic kidney disease (CKD) and end-stage chronic renal disease (ESRD), emerging as a major predictor of mortality in patients with DM (2). The manifestation of DKD typically depends on the duration of DM, patient age, systemic arterial hypertension, dyslipidemia, and glycemic control. Clinically, DKD is characterized by the presence of albuminuria and/or a progressive decline in glomerular filtration rate (GFR) (3).

It is widely acknowledged that, in addition to the conventional environmental risk factors previously outlined, a robust genetic component significantly influences the onset of DKD (4-7). Several genome-wide association studies (GWAS) have pinpointed various susceptibility *loci* contributing to the development or progression of microvascular complications of DM (8-11). Among these *loci*, the *ARHGAP22* and *ELMO1* genes are potential candidate genes for DKD due to their roles in pathways related to pathogenesis of DM complications (12,13).

Received on Apr/8/2024
Accepted on Dec/5/2024
DOI: 10.20945/2359-4292-2024-0167

**Correspondence to:**
Daisy Crispim
Rua Ramiro Barcelos, 2.350, prédio 12; 4º andar
Zip code: 90035-003 – Porto Alegre, RS, Brazil
E-mail: dcmoreira@hcpa.edu.br

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License

Copyright© AEEM all rights reserved.

*Molecular Nutrition & Food Research*

WILEY-VCH

Molecular Nutrition & Food Research

RESEARCH ARTICLE OPEN ACCESS

# Dietary Blueberry Supplementation Attenuates the Effects of an Ultra-Processed Food Cafeteria Diet on Weight Gain and Metabolic Parameters, Enhancing Nutrigenomic Profiles in C57BL/6 Mice

Felipe Mateus Pellenz[1,2] | Mayara Souza de Oliveira[1,2] | Shiva Cerutti Witteé[1] | Joana Raquel Nunes Lemos[3] | Bianca Gomes Panis[1] | Isadora Cristina Godoy de Lima[1] | Celina Fagundes da Silva[1] | Anna Carolina Meireles Vieira[1] | Mariana Rauback Aubin[1] | Luciane Moretto[1,2] | Monique Banik Siqueira[1] | Eliandra Girardi[1] | Raif Gregorio Nasre-Nasser[1,2] | Karla Suzana Moresco[4] | Letícia de Almeida Brondani[5] | Guilherme Coutinho Kullmann Duarte[2] | Rafael Aguiar Marschner[1,2] | Bianca Marmontel de Souza[2] | Daisy Crispim[1,2]

[1]Endocrine Division, Hospital De Clínicas De Porto Alegre, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil | [2]Faculdade de Medicina, Post-Graduate Program in Medical Sciences: Endocrinology, Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil | [3]Postdoctoral Researcher in Diabetes Research Institute and Clinical Cell Transplant Program, University of Miami Miller School of Medicine, Miami, Florida, USA | [4]Departamento De Nutrição, Universidade Federal do Paraná, Paraná, Brazil | [5]Unit of Laboratorial Research, Experimental Research Center, Hospital De Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

**Correspondence:** Daisy Crispim (dcmoreira@hcpa.edu.br)

**Received:** 31 January 2025 | **Revised:** 24 May 2025 | **Accepted:** 17 June 2025

**Funding:** This study was supported by the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), Financiamento e Incentivo à Pesquisa (FIPE) at Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Postgraduation Program in Medical Sciences: Endocrinology at Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil; and SG Mirtilos.

**Keywords:** blueberry | cafeteria diet | hepatic steatosis | insulin resistance | obesity | supplementation

## ABSTRACT

The cafeteria diet (CAFD) model mimics Western dietary patterns, inducing obesity in mice. Blueberry (BB) consumption improves metabolic outcomes due to its anti-inflammatory and antioxidant properties, though mechanisms remain unclear. This study assessed BB supplementation effects on biometric, metabolic, and hepatic steatosis parameters in CAFD-fed mice, and analyzed obesity-related gene expression in adipose tissues, liver, muscle, and hypothalamus. Thirty-two male C57BL/6 mice were divided into three groups: Control (C, standard diet—SD; $N = 10$), CAF (CAFD + SD; $N = 12$), and BB (SD + CAFD + BB; $N = 10$). BB animals received 22.4 g of freeze-dried BB per week. After 16 weeks, biometric and glycemic parameters, insulin resistance (IR), hepatic steatosis, oxidative stress markers, and serum leptin, adiponectin, and irisin levels were evaluated. Expression of genes related to apoptosis, lipid and glucose metabolism, oxidative stress, and adipocytokine pathways was analyzed by qPCR. BB supplementation improved biometric, glycemic, IR, hepatic steatosis, and oxidative stress and antioxidant markers

**Abbreviations:** AT, adipose tissue; BAT, brown adipose tissue; BB, blueberry; CAFD, cafeteria diet; DIO, diet-induced obesity; GSH, glutathione; GST, glutathione-S-transferase; HFD, high-fat diet; HOMA-IR, homeostatic model assessment of insulin resistance; IR, insulin resistance; KEGG, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes; OGTT, oral glucose tolerance test; ROS, reactive oxygen species; SAT, subcutaneous adipose tissue; SD, standard diet; SOD, superoxide dismutase; T2DM, type 2 diabetes mellitus; TBARS, thiobarbituric acid; UPFs, ultra-processed foods; VAT, visceral adipose tissue.

Felipe Mateus Pellenz and Mayara Souza de Oliveira contributed equally to this work.

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2025 The Author(s). *Molecular Nutrition & Food Research* published by Wiley-VCH GmbH.

metabolites

MDPI

*Article*

# Zinc-Related Proteasome Variants in Type 1 Diabetes: An in Silico-Guided Case-Control Study

**Raif Gregorio Nasre-Nasser [1,2], Anna Carolina Meireles Vieira [2], Felipe Mateus Pellenz [2,3], Luciane Moretto [1,2], Eliandra Girardi [2], Taís Silveira Assmann [1], Chih-Hao Lu [4], Luís Henrique Canani [1,2], Cristine Dieter [1,2,5] and Daisy Crispim [1,2,*]**

[1] Graduate Program in Medical Sciences: Endocrinology, Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre 90035-000, Rio Grande do Sul, Brazil; raifgnn@gmail.com (R.G.N.-N.)
[2] Endocrine Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre 90035-003, Rio Grande do Sul, Brazil
[3] Escola da Saúde, Universidade do Vale do Rio dos Sinos—UNISINOS, São Leopoldo 93022-154, Rio Grande do Sul, Brazil
[4] Institute of Bioinformatics and Systems Biology, National Yang Ming Chiao Tung University, Hsinchu 300093, Taiwan
[5] Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento Humano, Universidade La Salle, Canoas 92010-000, Rio Grande do Sul, Brazil
* Correspondence: dcmoreira@hcpa.edu.br

**Abstract**

Introduction: The proteasome is a multicatalytic complex responsible for protein degradation and regulation of immune responses, and has been implicated in type 1 diabetes mellitus (T1DM) pathogenesis. Zinc ($Zn^{2+}$) is essential for insulin granule biogenesis and modulates proteasomal activity. This study investigated associations between single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in proteasomal subunits predicted to bind $Zn^{2+}$ and T1DM susceptibility or related traits. Methods: This case–control study included 654 patients with T1DM and 573 subjects without DM from Southern Brazil. SNPs were selected through in silico analysis using MIB docking platform to identify $Zn^{2+}$-interacting residues in proteasomal subunits. Five SNPs in proteasomal subunit genes—*PSMA6* (rs1048990), *PSMB6* (rs2304975), *PSMB9* (rs17587), *PSMC6* (rs2295825), and *PSMD3* (rs3087852)—were genotyped using TaqMan assays. Results: The *PSMC6* rs2295825C allele was associated with lower T1DM (OR = 0.77, 95% CI 0.61–0.97; $p = 0.028$) and diabetic retinopathy (DR; OR = 0.65; 95% CI 0.42–0.99; $p = 0.048$) risk, and a more favorable lipid profile (higher HDL-C, lower triglycerides) compared to the G/G genotype. The *PSMB9* rs17587A/A genotype was linked to higher total cholesterol and HbA1c levels. The *PSMA6* rs1048990G allele was linked to increased prevalence of diabetic kidney disease (DKD; OR = 1.75, 95% CI 1.02–2.99; $p = 0.042$), and the *PSMD3* rs3087852A allele was associated with lower urinary albumin excretion. No significant associations were observed for the *PSMB6* rs2304975 SNP. Conclusions: The *PSMC6* rs2295825 SNP may confer protection against T1DM. The *PSMC6* rs2295825, *PSMB9* rs17587, *PSMA6* rs1048990, and *PSMD3* rs3087852 SNPs appear to influence lipid metabolism and diabetic microvascular complications.

**Keywords:** T1DM; proteasome; single nucleotide polymorphism; zinc; *PSMC6*; *PSMB9*; *PSMA6*; *PSMD3*; kidney disease; retinopathy

check for updates

Academic Editors: Prince Dadson and Miikka-Juhani Honka

Received: 6 November 2025
Revised: 25 November 2025
Accepted: 26 November 2025
Published: 28 November 2025

**Citation:** Nasre-Nasser, R.G.; Meireles Vieira, A.C.; Pellenz, F.M.; Moretto, L.; Girardi, E.; Assmann, T.S.; Lu, C.-H.; Canani, L.H.; Dieter, C.; Crispim, D. Zinc-Related Proteasome Variants in Type 1 Diabetes: An in Silico-Guided Case-Control Study. *Metabolites* **2025**, *15*, 772. https://doi.org/10.3390/metabo15120772

**Copyright:** © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Manuscritos produzidos em fase de submissão/finalização.

- **The dual role of ZnT8 gene variants in type 1 diabetes and lipid metabolism: insights from a Southern Brazilian population.**

  Autores: Raif Gregorio Nasre Nasser; Anna Carolina Meireles Vieira; Felipe Mateus Pellenz; **Luciane Moretto**; Eliandra Girardi; Taís Silveira Assmann; Luís Henrique Canani; Cristine Dieter; Daisy Crispim.

  Artigo submetido na revista *Acta Diabectalogica*.

- **ZnT3 (SLC30A3) polymorphisms are linked to diabetic retinopathy and albuminuria in patients with type 1 diabetes.**

  Autores: Raif Gregorio Nasre Nasser; Anna Carolina Meireles Vieira; **Luciane Moretto**; Eliandra Girardi; Taís Silveira Assmann; Luís Henrique Canani; Cristine Dieter; Daisy Crispim.

  Artigo submetido na *Archives of Endocrinology and Metabolism*.