

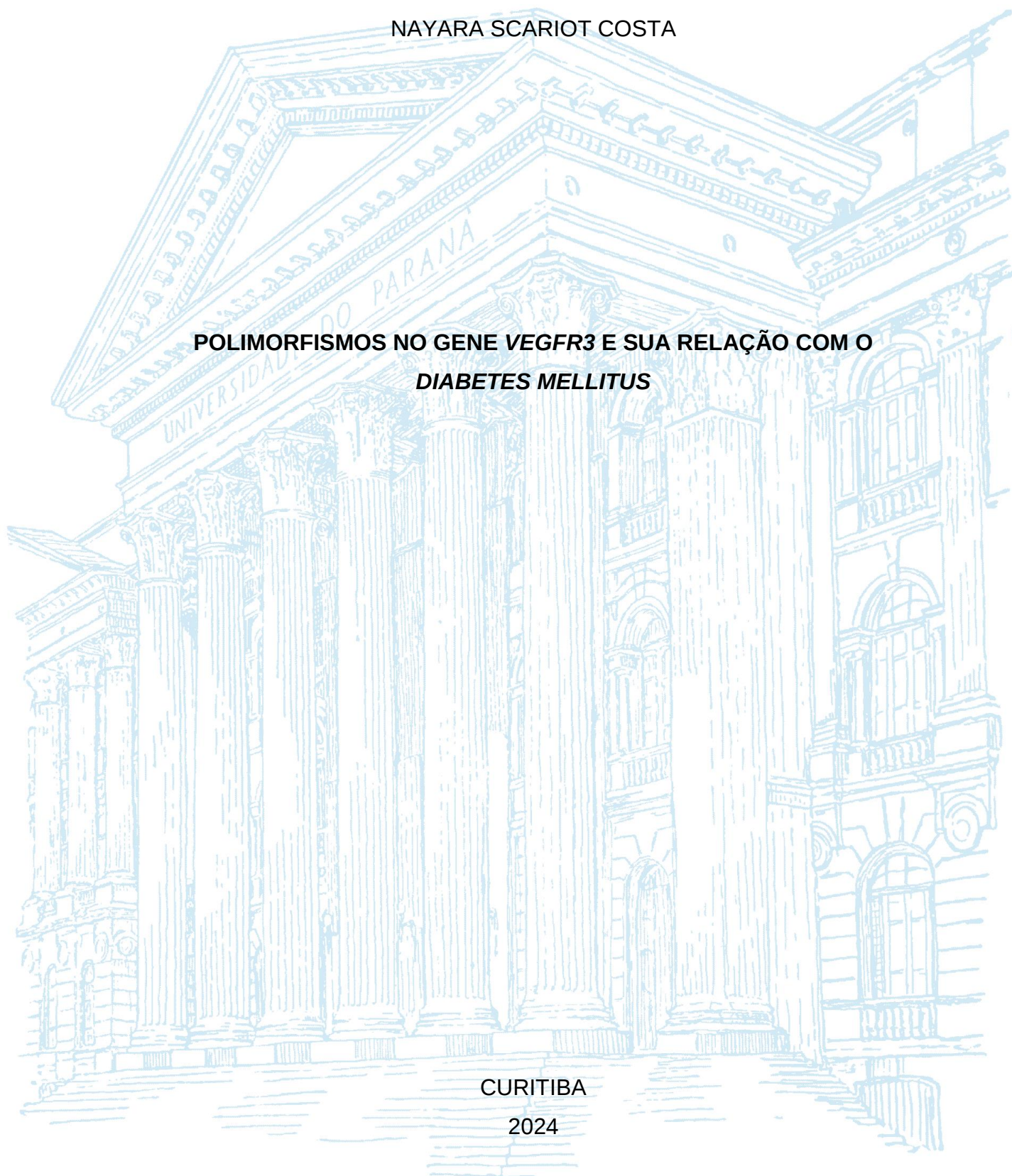
**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE BIOMEDICINA**

NAYARA SCARIOT COSTA

**POLIMORFISMOS NO GENE *VEGFR3* E SUA RELAÇÃO COM O
*DIABETES MELLITUS***

CURITIBA

2024



NAYARA SCARIOT COSTA

**POLIMORFISMOS NO GENE *VEGFR3* E SUA RELAÇÃO COM O
*DIABETES MELLITUS***

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Coordenação do Curso, Setor de Ciências
Biológicas, da Universidade Federal do Paraná,
como requisito parcial à obtenção do grau de
bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Fabiane Gomes de
Moraes Rego.

CURITIBA

2024

Dedico este trabalho a minha família, que sempre me apoiou e me incentivou a concretizar meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela oportunidade de mais uma conquista e por ter me sustentado até aqui.

Agradeço aos meus pais, Tânia e Valdecir, pelo amor, incentivo e amparo que sempre tiveram comigo, mas especialmente durante a graduação, à distância.

Agradeço a minha irmã, Jéssica, pela companhia durante a caminhada acadêmica, por todo ensinamento e cuidado contínuos.

Agradeço a minha vó, Nilce, por todas as orações, por todo o carinho e preocupação comigo.

Agradeço a minha orientadora, professora Fabiane, pela contribuição no meu desenvolvimento acadêmico e pela paciência durante o processo.

Agradeço à equipe do laboratório, em especial à Christiane, pelo aprendizado e pelos conselhos durante a iniciação científica.

Agradeço aos meus amigos e colegas, pela companhia durante o curso e por amenizar a saudade da família.

Agradeço a minha amiga Gabriela, pela ajuda ímpar no início do projeto.

“Até aqui o Senhor nos ajudou.”

1 Samuel 7:12

RESUMO

Receptor 3 do fator de crescimento endotelial vascular (*VEGFR3*), um receptor de tirosina quinase codificada pelo gene *FLT4*, desempenha um papel significativo na morfogênese e manutenção dos vasos linfáticos. Sob condições normais e patológicas, os fatores de crescimento VEGF-C e VEGF-D ligam-se à *VEGFR3* na superfície das células endoteliais linfáticas (LECs) e induz a proliferação linfática, migração e sobrevivência. A função linfática prejudicada e a sinalização de *VEGFR3* têm sido associadas a uma miríade de doenças relacionadas ao *diabetes mellitus* comumente encontradas com estas condições clínicas. Além disso, a sequência, a organização e variações do gene *FLT4* e sua região regulatória fornecem ferramentas importantes para a análise genética molecular do sistema linfático e seus distúrbios. Esta revisão narrativa consultou as bases de dados NCBI, PubMed, BVS, SciELO e CAPES para realizar a seleção de materiais. O presente trabalho forneceu uma breve visão geral da sinalização através de *VEGFR3*, apresentou os 20 polimorfismos diferentes do tipo SNP presentes no gene que codifica o receptor *VEGFR3* e explorou exemplos de sinalização *VEGFR3* desregulada na obesidade, síndrome metabólica e doenças autoimunes. Uma compreensão mais completa dos mecanismos moleculares subjacentes à patologia linfática de cada doença permitirá o desenvolvimento de novas estratégias para tratar estas doenças crônicas e muitas vezes debilitantes.

Palavras-chave: síndrome metabólica; *FLT4*; *VEGFR3*; SNP; vasos linfáticos.

ABSTRACT

Receptor 3 from vascular endothelial growth factor (*VEGFR3*), a tyrosine kinase codified by the gene *FLT4*, has a potential role in morphogenesis and maintenance of the lymphatic vessels. Under normal and pathologic conditions, VEGF-C and VEGF-D bind to *VEGFR3* on the surface of the endothelial lymphatic cells (LECs) and it prompts the lymphatic proliferation, migration and the survival. The damaged lymphatic function and the *VEGFR3* signaling have been associated to a huge variety of diseases related to diabetes mellitus, most commonly found under these clinical conditions. Although, the sequence, the organizations and the variation from the *FLT4* gene and its regulatory region offers great tools to make a molecular gene analyses from the lymphatic system and its disorders. This paperwork consults the NCBI, PubMed, BVS, SciELO and CAPES data basis to select the materials used in the study. The study offered a general comprehension from the signaling through the *VEGFR3*, presented the 20 different polymorphisms in the SNP type found in the gene which codifies the *VEGFR3* receptor and explored some examples from unregulated *VEGFR3* signaling in obesity, metabolic syndrome and autoimmune diseases. A most complete comprehension from the subjacent molecular mechanisms to lymphatic pathologies and each disease caused by this disorder will allow the development of new strategies to treat those chronic diseases and, most of the time, debilitating.

Keywords: diabetes; *FLT4*; *VEGFR3*; polymorphism; lymphatic vessels.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Fluxograma do método utilizado para a revisão de literatura	14
FIGURA 2 – Mecanismo de sinalização da via VEGF-VEGFR3	17
FIGURA 3 – Localização do gene <i>VEGFR3</i> no cromossomo	17
FIGURA 4 – Estimativa do número total de adultos (20-79 anos) com diabetes em 2021	20
FIGURA 5 – Critérios laboratoriais para diagnóstico de <i>diabetes melitus</i>	22

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Descrição dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) do gene <i>VEGFR3</i>	19
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

ADA	- <i>American Diabetes Association</i> – Associação Americana de Diabetes
DM	- <i>Diabetes mellitus</i>
DM1	- <i>Diabetes mellitus</i> tipo 1
DM2	- <i>Diabetes mellitus</i> tipo 2
HbA1c	- Hemoglobina glicada
IDF	- <i>International Diabetes Federation</i> – Federação Internacional de Diabetes
mRCC	- <i>Metastatic Renal Cell Carcinoma</i> – Carcinoma de células renais metastático
OMS	- Organização Mundial da Saúde
PIGF	- Fator de Crescimento Placentário
rs	- <i>Reference Sequence</i> – Identificação dos polimorfismos de nucleotídeo único
SBD	- Sociedade Brasileira de Diabetes
SNP	- <i>Single Nucleotide Polymorphism</i> – Polimorfismos de nucleotídeo único
TOTG	- Teste Oral de Tolerância à Glicose
VEGF	- <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> - Fator de Crescimento Endotelial Vascular
VEGF-A	- Fator de Crescimento Endotelial Vascular A
VEGF-B	- Fator de Crescimento Endotelial Vascular B
VEGF-C	- Fator de Crescimento Endotelial Vascular C
VEGF-D	- Fator de Crescimento Endotelial Vascular D
VEGFR	- <i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor</i> - Receptor para o fator de crescimento endotelial vascular
VEGFR3	- Receptor 3 para o fator de crescimento endotelial vascular
sVEGFR3	- Receptor 3 solúvel para o fator de crescimento endotelial vascular

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	PROBLEMA.....	12
1.2	OBJETIVOS	13
1.2.1	Objetivo geral	13
1.2.2	Objetivos específicos.....	13
1.3	JUSTIFICATIVA.....	13
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1	Sinalização da via VEGF-VEGFR3.....	15
3.1.1	Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF).....	15
3.1.2	Fator de Crescimento Endotelial Vascular C (VEGF-C)	15
3.1.3	Fator de Crescimento Endotelial Vascular D (VEGF-D)	16
3.1.4	Receptor de Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGFR)	16
3.1.5	Receptor de Fator de Crescimento Endotelial Vascular 3 (<i>VEGFR3</i>)	17
3.2	Polimorfismos do gene <i>VEGFR3</i>	18
3.3	Eixo VEGF-VEGFR3 e diabetes	20
3.3.1	<i>Diabetes mellitus</i>	20
3.3.2	Autoimunidade e desordens autoinflamatórias.....	22
3.3.3	Obesidade, síndrome metabólica e DM2.....	23
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	24
	REFERÊNCIAS	25

1 INTRODUÇÃO

1.1 PROBLEMA

A vasculatura linfática é responsável por regular o fluxo de células imunológicas e a homeostase do fluido intersticial (PETROVA; KOH, 2020), sendo essencial para a morfogênese de quase todos os órgãos ao longo do desenvolvimento fetal (WONG *et al.*, 2018). No período pós-natal, a estabilidade da função linfática é primordial para a realização das atividades fisiológicas na maioria dos órgãos, incluindo o sistema nervoso central, sistema cardiovascular e gastrointestinal (PETROVA; KOH, 2017).

A contribuição linfática para a circulação é de suma importância na regulação da homeostase dos fluidos, no tráfego/ativação de células imunológicas e no metabolismo lipídico (MAGOLD; SWARTZ, 2022; MAISEL *et al.*, 2017). Em comparação com a vasculatura sanguínea, o impacto dos sistemas linfáticos tem sido subestimado, tanto na saúde como na doença, provavelmente devido a uma anatomia e função menos bem delineadas. Dados emergentes sugerem que a disfunção linfática pode ser fundamental no início e no desenvolvimento de uma variedade de doenças em amplos sistemas orgânicos. A compreensão das associações clínicas entre disfunção linfática e morbidade não linfática fornece evidências valiosas para investigações futuras e pode promover a descoberta de novos biomarcadores e terapias (ROCKSON *et al.*, 2022).

Recentemente, crescem as evidências de que a disfunção da vasculatura linfática está relacionada à patogênese da obesidade e dislipidemia associada à obesidade e inflamação crônica de baixo grau (HARVEY *et al.*, 2005; ASPELUND *et al.*, 2016), provavelmente devido à importância do sistema linfático para o sistema imunológico, para a homeostase e para o transporte lipídico (JIANG *et al.*, 2018). Nos humanos, a disfunção linfática está relacionada à obesidade, ao diabetes e ao envelhecimento, aumentando o risco de doença cardiovascular (ESCOBEDO; OLIVER, 2017; JIANG *et al.*, 2019; CIFARELLI; EICHMANN, 2019; AZHAR *et al.*, 2020; BARANWAL; RUTKOWSKI, 2019). Rockson e colaboradores (2022) publicaram uma análise de coorte retrospectiva unicêntrica, onde encontrou associação positiva entre a presença de distúrbios linfáticos clinicamente diagnosticados e diabetes, fortalecendo ainda mais a hipótese do envolvimento linfático na patogênese da doença metabólica (ROCKSON *et al.*, 2022).

A via central para a linfangiogênese é a sinalização do receptor do fator de crescimento endotelial vascular 3 (*Vascular Endothelial Growth Factor 3 – VEGFR3*) ativada pelos fatores de crescimento endotelial vascular C (*Vascular Endothelial Growth Factor C – VEGF-C*) e D (*Vascular Endothelial Growth Factor D – VEGF-D*) (ZHENG; ASPELUND; ALITALO, 2014).

VEGFRs são fundamentais no desenvolvimento e manutenção dos problemas cardiovasculares e sistemas linfovasculares no decorrer da vida. A expressão irregular ou disfunção do gene que codifica os VEGFRs estão associadas a várias doenças humanas. Assim, a variabilidade genética do hospedeiro diante dessa via influencia outras vias biológicas que dependem da angiogênese (ENG *et al.*, 2012). Mutações de nucleotídeo único, também conhecidas como polimorfismos, no gene *VEGFR3* são responsáveis pelo desenvolvimento da doença de Milroy, originada pela malformação dos vasos linfáticos (GORDON *et al.*, 2013). E outras mutações no *VEGFR3* podem estar envolvidas com doenças cardíacas congênitas (MONAGHAN *et al.*, 2021).

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Verificar, na literatura, estudos que demonstram possível associação entre os polimorfismos do gene *VEGFR3* e o risco ou proteção para o *diabetes mellitus*.

1.2.2 Objetivos específicos

Reunir e descrever pesquisas realizadas e publicadas relacionadas à consequência dos polimorfismos na funcionalidade do gene *VEGFR3* e seu impacto na patogênese do diabetes.

1.3 JUSTIFICATIVA

Polimorfismos relacionados ao gene *VEGFR3* podem influenciar o seu funcionamento e afetar diretamente a patogênese do *diabetes mellitus* e as complicações associadas. Reunir essas informações específicas permite ter uma

visão geral sobre a influência genética nessa doença e viabiliza pesquisas direcionadas em relação ao risco, prevenção e tratamento específico.

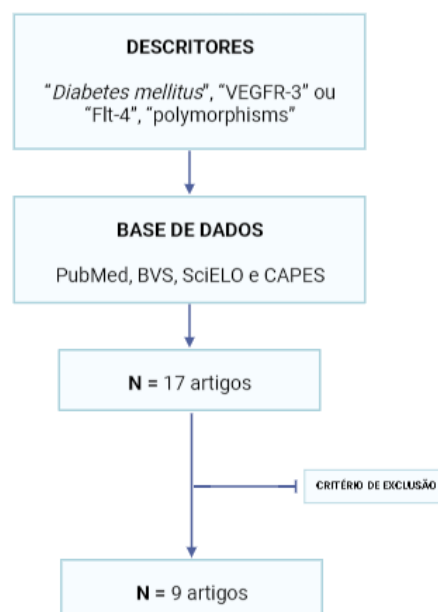
2 MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente, a consulta dos polimorfismos do gene *VEGFR3* foi feita pela plataforma do NCBI na seção “*Variation Viewer*”, usando o banco de dados de SNP (dbSNP) e “variante de nucleotídeo único” como filtros para a pesquisa. Foram exibidos 20 polimorfismos diferentes.

Posteriormente, uma revisão de literatura foi realizada através da seleção de artigos científicos disponíveis nas bases de dados PubMed, BVS, SciELO e CAPES, utilizando os seguintes descritores: “*Diabetes mellitus*”, “*VEGFR-3*” ou “*Flt-4*”, “*polymorphisms*”. Foram encontrados 9 artigos.

Os estudos incluídos nesta revisão narrativa deveriam associar o *diabetes mellitus* com complicações ou doenças relacionadas. Além disso, deveriam descrever a relação do DM ou de complicações com os polimorfismos relacionados do gene *VEGFR3*. Artigos que não abordavam as consequências dos polimorfismos do gene *VEGFR3* em complicações micro e macrovasculares foram excluídos do estudo. A seleção foi realizada a partir da leitura dos resumos e visão geral dos artigos. O método deste trabalho foi realizado conforme representação da Figura 1.

FIGURA 1 – Fluxograma do método utilizado para a revisão de literatura



FONTE: O autor (2024).

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Sinalização da via VEGF-VEGFR3

O processo de formação de novos vasos sanguíneos pelo surgimento de células endoteliais por meio da vasculatura pré-existente é chamado de angiogênese (CARMELIET, 2005). Esse mecanismo está presente em várias condições patológicas como obesidade e DM2 (SCALLAN; HILL; DAVIS, 2015; SAWANE *et al.*, 2013; WU *et al.*, 2018), doenças inflamatórias (ALKIM *et al.*, 2015) e também na fisiologia normal.

3.1.1 Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF)

O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) é o principal regulador da formação de vasos sanguíneos dentre as moléculas endógenas pró-angiogênicas (CARMELIET, 2005). A família de proteínas VEGF inclui VEGF-A, VEGF-B (FEARNLEY *et al.*, 2014) VEGF-C, VEGF-D e PlGF (Fator de Crescimento Placentário), sendo que VEGF-C e VEGF-D são fatores que agem na linfangiogênese por induzir o crescimento dos vasos linfáticos (TAMMELA *et al.*, 2005).

As proteínas VEGF são secretadas e sofrem *splicing* alternativo ou clivagem proteolítica para serem disponibilizados às células endoteliais (FERRARA, 2009). Sua ligação a receptores de tirosina quinase ou a co-receptores induz proliferação e migração das células endoteliais, de maneira que estimula o recrutamento de células inflamatórias (TAMMELA *et al.*, 2005). Os fatores VEGF-C e VEGF-D se ligam ao receptor *VEGFR3*, acarretando na linfangiogênese (PAJUSOLA *et al.*, 1992).

3.1.2 Fator de Crescimento Endotelial Vascular C (VEGF-C)

O fator VEGF-C sofre processo proteolítico no meio extracelular que aumenta sua afinidade a *VEGFR2* e *VEGFR3*, principalmente, pois é produzido como proteína precursora. Sua concentração interfere diretamente no crescimento da vasculatura linfática pois induz linfangiogênese seletiva. Além disso, seus efeitos são influenciados por citocinas pró-inflamatórias que regulam a expressão de fatores linfangiogênicos na inflamação (TAMMELA *et al.*, 2005).

A via de sinalização VEGF-C/VEGFR3 é essencial para garantir a regulação do sistema linfático, de modo que o bloqueio do eixo pode interferir na linfangiodilatação e agravar a inflamação em várias doenças. No entanto, casos em que a quantidade de VEGF-C esteja aumentada, a linfangiodilatação pode melhorar ao passo que a inflamação pode reduzir em doenças como artrite reumatoide, inflamação da pele e doença inflamatória intestinal (SCHWAGER; DETMAR, 2019).

3.1.3 Fator de Crescimento Endotelial Vascular D (VEGF-D)

O fator VEGF-D também é processado e encontrado principalmente no pulmão e na pele. Uma vez em sua forma inteiramente processada, o fator pode se ligar e ativar *VEGFR2* e *VEGFR3*, induzindo forte angiogênese e linfangiogênese (TAMMELA *et al.*, 2005).

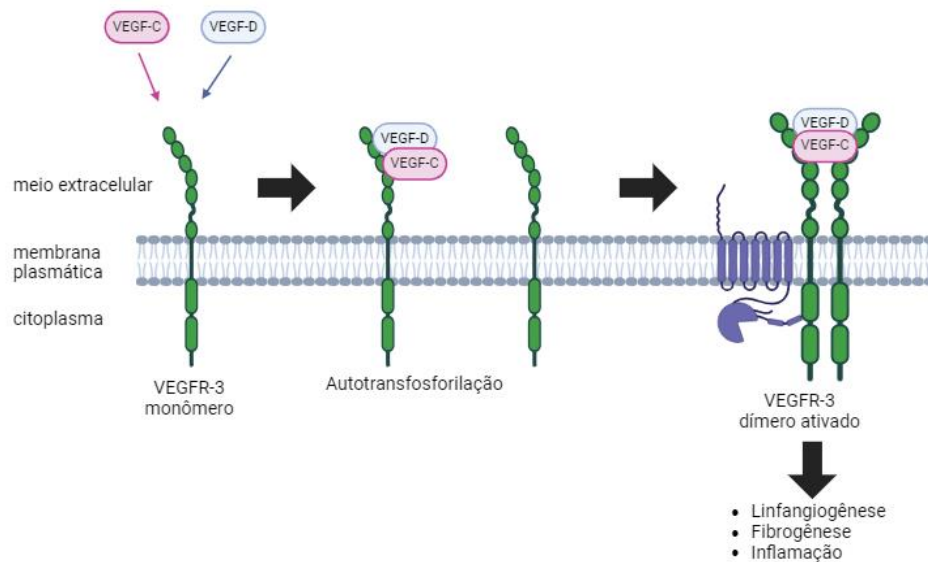
3.1.4 Receptor de Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGFR)

Os receptores de fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR) abrangem três subtipos codificados por diferentes genes: *VEGFR1* (Flt-1) presente em osteoblastos, células endoteliais, macrófagos e monócitos (CASELLA *et al.*, 2003; SAWANO *et al.*, 2001), *VEGFR2* (Flk-1) encontrado em osteoblastos, células do duto pancreático, células neuronais e megacariócitos (TAMMELA *et al.*, 2005) e *VEGFR3* (Flt-4) expresso em células linfáticas e endoteliais vasculares embrionárias, macrófagos e monócitos (HAMRAH *et al.*, 2003; PARTANEN *et al.*, 2000). Apesar de ser expresso no duto pancreático, o *VEGFR2* é coadjuvante no processo de linfangiogênese durante a fase adulta e sua função está fortemente direcionada à angiogênese (TAMMELA *et al.*, 2005).

A sinalização se inicia através da ligação entre um dímero VEGF ligado covalentemente e o domínio extracelular do receptor, promovendo a sua dimerização e autotransfosforilação (Figura 2). Esse processo ativa várias vias celulares diferentes através da transdução de sinal. Assim, mudanças estruturais no domínio extracelular são direcionadas ao domínio intracelular e provocam sinalização transmembrana. A dimerização pode se dar por diversos mecanismos, sendo ela necessária, mas não suficiente para ativar o VEGFR, exigindo posterior fosforilação. Além disso, a interação com a membrana plasmática posiciona o

domínio quinase na membrana de maneira funcional para iniciar a sinalização transmembrana (STUTTFELD; BALLMER-HOFER, 2009).

FIGURA 2 – Mecanismo de sinalização da via VEGF-VEGFR3



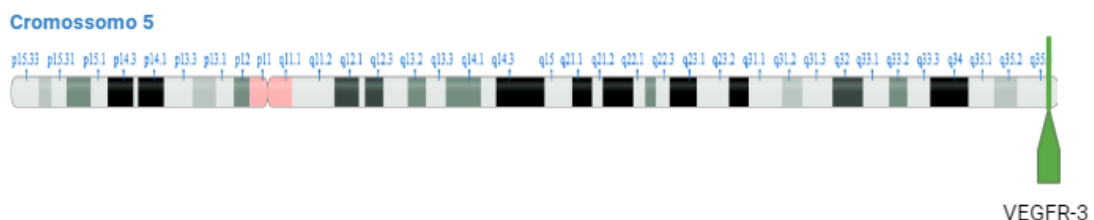
LEGENDA: Representação esquemática do mecanismo de ativação do *VEGFR3*. Os ligantes do tipo VEGF-C e/ou VEGF-D se ligam ao *VEGFR3* na sua forma monomérica, provocando sua dimerização através da autotransfosforilação pelo domínio quinase. Esse complexo resultante possui funções celulares.

FONTE: O autor (2024).

3.1.5 Receptor de Fator de Crescimento Endotelial Vascular 3 (*VEGFR3*)

O receptor do fator de crescimento endotelial vascular 3 (*VEGFR3*), também conhecido como Flt-4, é do tipo tirosina quinase e pode se ligar a VEGF-C e VEGF-D. O gene que codifica o *VEGFR3* está localizado na região exônica do cromossomo 5 (5q35.3), como mostra a Figura 3 (NCBI, 2019).

FIGURA 3 – Localização do gene *VEGFR3* no cromossomo



FONTE: Adaptado do NCBI (2024).

Sua organização genômica é similar à do *VEGFR1* e *VEGFR2*, sendo que o *VEGFR3* é expresso em células endoteliais tumorais e linfáticas, macrófagos e

monócitos (PARTANEN *et al.*, 2000; HAMRAH *et al.*, 2003). Apesar de o *VEGFR3* estar comumente relacionado à membrana plasmática das células, também pode ser encontrado na sua forma solúvel (sVEGFR-3) na corrente sanguínea e outros fluidos (SHIBUYA; CLAEISSON-WELSH, 2006).

Inibir a atividade da via de sinalização VEGF-C ou VEGF-D através de *VEGFR3* solúvel, resulta na regressão dos vasos linfáticos. Sabe-se também que estímulos mecânicos aumentam a magnitude da sinalização de *VEGFR3* iniciada por VEGF-C. Logo, esse processo influencia a linfangiogênese, que está diretamente relacionada a complicações do diabetes (SECKER; HARVEY, 2021).

Estudos recentes identificaram polimorfismos de nucleotídeo único (*Single Nucleotide Polymorphism* - SNP) que podem ser importantes e úteis em relação à patogênese de doenças relacionadas com a linfangiogênese. Além disso, mutações *missense* no gene *VEGFR3* demonstraram ser causa de linfedema familiar de início precoce e de linfedema hereditário (ILJIN *et al.*, 2001; TAMMELA *et al.*, 2005).

3.2. Polimorfismos do gene *VEGFR3*

Polimorfismo de nucleotídeo único (SNP), também chamado de variante *missense*, é uma sequência que contém mudança de uma base, resultando em uma sequência de aminoácido diferente preservando seu comprimento. Esse é o tipo mais comum de variação genética em local específico no genoma humano (FRAZER *et al.*, 2007).

Os polimorfismos localizados em regiões regulatórias de um gene podem comprometer as taxas de transcrição, mudando a expressão de proteínas correspondentes. Da mesma forma, a variabilidade fenotípica também é determinada pelos polimorfismos, o que resulta em maior suscetibilidade a muitas doenças (LIAO; LEE, 2010).

Foram encontrados 20 polimorfismos diferentes, do tipo polimorfismo de nucleotídeo único (SNP), no gene que codifica o fator de crescimento endotelial vascular 3 (*VEGFR3*), conforme mostra a Tabela 1. Poucas publicações foram encontradas nas consultas individuais de cada polimorfismo em bases de dados, indicando que as informações obtidas se limitam aos dados moleculares e sugerindo que poucas pesquisas são direcionadas a esses polimorfismos ou que essas ainda não foram publicadas.

TABELA 1 – Descrição dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) do gene *VEGFR3*

Polimorfismo	Localização	Variação
rs1217806209	Chr5: 180619323	G>A
rs1762929691	Chr5: 180619325	G>A
rs1276121830	Chr5: 180619329	C>G
rs1319877692	Chr5: 180619331	A>G
rs1762930281	Chr5: 180619334	T>G
rs2127808435	Chr5: 180619339	G>A
rs1199271374	Chr5: 180619340	C>A
rs1762930605	Chr5: 180619341	G>A
rs768185411	Chr5: 180619342	C>T
rs1489676984	Chr5: 180619343	G>A
rs448012	Chr5: 180619344	G>C / G>T
rs1762931390	Chr5: 180619346	G>A
rs1762931569	Chr5: 180619347	C>A
rs2127808481	Chr5: 180619350	G>A
rs2127808491	Chr5: 180619354	G>A
rs763242614	Chr5: 180619356	C>G / C>T
rs771222400	Chr5: 180619357	G>A / G>T
rs774874185	Chr5: 180619358	T>A / T>G
rs1191930393	Chr5: 180619359	G>A
rs1581641970	Chr5: 180619361	C>A

FONTE: Adaptado do NCBI (2024).

O polimorfismo rs448012 é o único da lista que exibiu resultados individuais na pesquisa em banco de dados, sendo descrito como a substituição de uma guanina por uma citocina (G>C) na posição 2670 do éxon 19 do gene *VEGFR3*, resultando em uma variante *missense* devido à troca do aminoácido de histidina (His) por glutamina (Gln) (WALTER *et al.*, 2002; QIN *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2017). Considerando que esse polimorfismo se encontra na região do domínio de tirosina quinase, supõe-se que haja uma interferência na sinalização VEGF/VEGFR3 (EVANS *et al.*, 2003).

A presença de polimorfismos do gene *VEGFR3* no domínio quinase inibe a autotransfosforilação, diminuindo a atividade catalítica e a via de sinalização. Dessa forma, observou-se que essas mutações têm efeito predominantemente negativo em patologias como por exemplo a doença de Milroy, linfedema hereditário do tipo 1 caracterizado por mutação *missense* no gene que codifica o receptor *VEGFR3* (MONAGHAN *et al.*, 2020).

Adicionalmente, um estudo, realizado por García Donas e colaboradores (2011), associou o polimorfismo rs307826 do gene *VEGFR3* com a diminuição no índice de sobrevivência livre de progressão de pacientes com carcinoma de células renais metastático (*metastatic renal cell carcinoma* - mRCC) sob tratamento, e observou a redução no índice de sobrevivência global, apesar de não se ter ainda

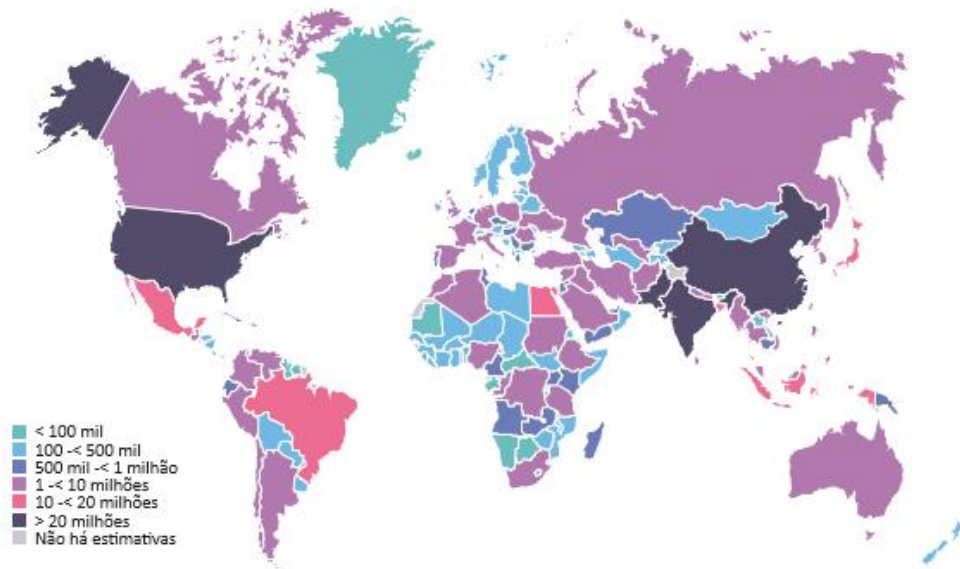
um esclarecimento sobre o papel dos polimorfismos de VEGFR no prognóstico dessa doença (MIAO *et al.*, 2017). Esse polimorfismo, apesar de não ter sido apresentado pelo banco de dados do NCBI durante a pesquisa, é caracterizado pela substituição de timina por adenina (T>A), resultando na troca do aminoácido de tirosina (Thr) por alanina (Ala) (NCBI, [s.d.]).

3.3 Eixo VEGF-VEGFR3 e diabetes

3.3.1 *Diabetes mellitus*

O *Diabetes mellitus* (DM) é um distúrbio de crescimento rápido e alarmante. A Federação Internacional de Diabetes estimou que 536 milhões de pessoas com faixa etária entre 20 e 79 anos seriam diagnosticadas com diabetes ao redor do mundo, cerca de 10% da população mundial (Figura 4). E a previsão para 2045 é de que esse número aumente para 783 milhões, indicando um aumento de 94% da população diabética (IDF, 2021).

FIGURA 4 – Estimativa do número total de adultos (20-79 anos) com diabetes em 2021



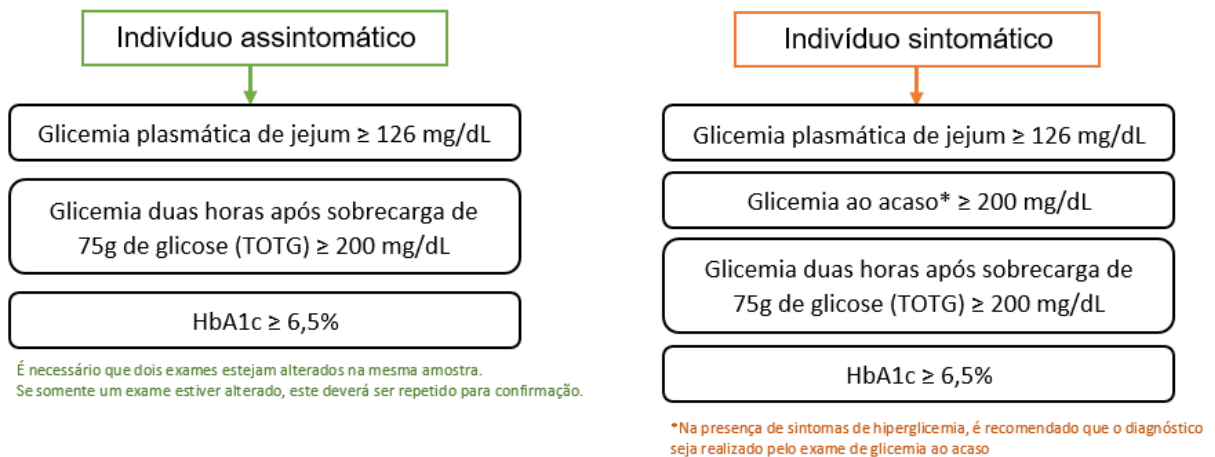
FONTE: Adaptado da Federação Internacional de Diabetes (2021).

O aumento de incidência do DM1 em crianças somado ao aumento do DM2 em jovens e adultos como reflexo de uma vida sedentária e dieta prejudicial são alguns dos motivos para o aumento estimado, apesar de envolver questões mais complexas.

O DM é considerado um grupo heterogêneo de distúrbios metabólicos crônicos, que podem ser caracterizados por hiperglicemia decorrente de defeitos na ação da insulina, na secreção da insulina ou ambos (SBD, 2018). As Diretrizes da Associação Americana de Diabetes (ADA) classificam o diabetes nas quatro categorias abaixo:

- a) *Diabetes mellitus* tipo 1 (DM1): ocasionado pela destruição das células beta pancreáticas devido a uma reação autoimune, resultando na produção de pouca ou nenhuma insulina.
 - Ocorre frequentemente em crianças.
- b) *Diabetes mellitus* tipo 2 (DM2): originado por resistência aumentada e anormal à ação da insulina, produção insuficiente de insulina ou ambas.
 - Representa a maior parte dos casos.
 - Mais comum em adultos acima de quarenta anos de idade.
- c) *Diabetes mellitus* gestacional: intolerância à glicose em níveis variados durante o período gestacional, associada à redução da atividade das células beta pancreáticas ou à resistência à insulina.
- d) Outros tipos de Diabetes: causado por defeitos genéticos específicos, doenças, ação de drogas ou substâncias químicas.

Qualquer tipo de diabetes pode ser diagnosticado conforme a concentração plasmática de glicose, valor de glicose em jejum, teste oral de tolerância à glicose (TOTG) ou hemoglobina glicada (HbA1c). A Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) determina que os critérios para diagnóstico devem incluir sintomatologia de poliúria, perda de peso e polidipsia associada à glicemia ao acaso com valor superior a 200 mg/dL. A Figura 5 apresenta os critérios para diagnóstico de diabetes, conforme as diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2023).

FIGURA 5 – Critérios laboratoriais para diagnóstico de *diabetes mellitus*

FONTE: O autor (2024).

O *Diabetes mellitus* é uma doença suscetível a determinantes genéticos, que podem sofrer mutações e polimorfismos genéticos recentemente associados também a complicações clínicas da doença. Estudos realizados com pacientes diabéticos portadores de complicações micro e macrovasculares sustentam a presença de fatores genéticos envolvidos na formação de complicações do diabetes, uma vez que a disfunção do receptor VEGFR afeta o funcionamento da vasculatura linfática, podendo originar as complicações micro e macrovasculares anteriormente citadas (KHARROUBI; DARWISH, 2015).

3.3.2 Autoimunidade e desordens autoinflamatórias

Existem evidências de que *VEGFR3* esteja envolvido em patologias autoimunes. Foi demonstrado que a expressão desse gene estava aumentada em doenças autoimunes de tireoide, como tireoidite e bócio (SHUSHANOV *et al.*, 2000). Também se revelou que as concentrações séricas de *VEGFR3* estavam aumentadas em indivíduos com psoríase em relação ao grupo controle ($P < 0,001$) (HONG *et al.*, 2018).

No contexto de proliferação de vasos linfáticos mediada por *VEGFR3* e a patogênese de DM1, um estudo (YIN *et al.*, 2011) demonstrou importante relação entre esses dois processos. Em condições normais, a presença de vasos linfáticos em proximidade às Ilhotas de *Langerhans* é desprezível. Contudo, em experimento realizado com ratos diabéticos não obesos, observou-se importante linfoangiogênese ao redor das ilhotas inflamadas, e que o processo de proliferação de vasos linfáticos estava associado à maior infiltração de células T e de macrófagos

na insulite. Ao se inibir o receptor VEGFR-3 e, por conseguinte, a linfoangiogênese, obteve-se menor infiltração de linfócitos T e macrófagos nas Ilhotas, preservação da arquitetura e da função das células pancreáticas e prevenção do aparecimento de diabetes. Em outro estudo, notou-se que a linfoangiogênese contribuía para o desencadeamento de resposta imunológica e inflamatória em transplantes de ilhotas, estando envolvida na rejeição do aloenxerto, enquanto a inibição desse processo por bloqueio de VEGFR-3 prevenia a rejeição ao transplante e a infiltração de linfócitos T no local, preservando as ilhotas (IRVIN *et al.*, 2014).

Além disso, foi demonstrado que as células do sinciciotrofoblasto da placenta de mulheres portadoras de DM1 apresentavam a expressão de *VEGFR3* 57,8% superior à de mulheres saudáveis (DUBOVA *et al.*, 2011). Essa evidência pode sugerir que a regulação positiva da linfangiogênese em pacientes com DM1 está associada à função do sinciciotrofoblasto, que é a via central da placenta para o transporte de nutrientes ao embrião, viabilizando esse processo (DEL MONACO *et al.*, 2006).

3.3.3 Obesidade, síndrome metabólica e DM2

Também foi mostrado que a obesidade diminui a função linfática pela regulação negativa da sinalização de *VEGFR3* via inflamação crônica de baixo grau e a diminuição da função linfática também contribui para o acúmulo de lipídios, causando obesidade e DM2 (KATARU *et al.*, 2020; ESCOBEDO; OLIVER, 2017; NORDEN; KUME, 2020; NITTI *et al.*, 2016; MEHRARA; GREENE, 2014; SCALLAN; HILL; DAVIS, 2015; SAWANE *et al.*, 2013; WU *et al.*, 2018). A disfunção linfática torna os indivíduos mais sensíveis ao desenvolvimento da obesidade, e a obesidade tende a piorar a função linfática. Considerando a obesidade como um dos principais fatores de risco para o DM2, provavelmente há uma co-evolução entre a patologia linfática e a evolução do diabetes, uma vez que a resistência à insulina das células endoteliais linfáticas promove a diminuição de sua função (JIANG *et al.*, 2019). A obesidade afeta diretamente a função linfática pois a expressão de *VEGFR3* se encontra diminuída devido à inflamação de baixo grau, contribuindo para o maior acúmulo de lipídios (KUONQUI *et al.*, 2023). Esse mesmo fator foi encontrado também no estudo de Deng e colaboradores (2023), confirmando que os sinais gerados pelo eixo VEGF-VEGFR3 estão relacionados ao metabolismo de lipídeos.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os polimorfismos presentes no gene *VEGFR3* podem afetar o funcionamento da via de sinalização VEGFR-VEGFR3 e, conseqüentemente, a linfangiogênese. Essa condição não está relacionada diretamente ao *diabetes mellitus*, mas já pode ser observada em condições metabólicas clínicas fortemente associadas ao DM1 e DM2: o controle positivo do eixo de sinalização do *VEGFR3*, originado por mutação, ocasiona o aumento da função linfática que está relacionado ao DM1, por outro lado, a mutação que gera o controle negativo desse mesmo eixo promove a diminuição da função linfática associada ao DM2.

As funções do *VEGFR3* na linfangiogênese, angiogênese e cardiogênese e a ligação às condições humanas de variantes genéticas distintas do gene torna-o um caminho atraente para pesquisas futuras. Contudo, devido à natureza complicada destes diferentes processos e à dificuldade de separá-los experimentalmente, os pesquisadores devem planejar cuidadosamente as técnicas que eles adotam para elucidar as funções fisiológicas e mecanismos de doença associados ao *VEGFR3*.

REFERÊNCIAS

- ADA – AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. **Standars of medical care in diabetes. United States of America**, 2017.
- ALKIM, C. *et al.* Angiogenesis in Inflammatory Bowel Disease. **Int J Inflam.** v. 2015, p. 970890, 2015.
- ASPELUND, A. *et al.* Lymphatic system in cardiovascular medicine. **Circ. Res.** n. 118, p. 515-530, 2016.
- AZHAR, S. H. The unresolved pathophysiology of lymphedema. **Front. Physiol.** v. 11, p. 137, 2020.
- BARANWAL, G.; RUTKOWSKI, J. M. Reduced lymphatic function contributes to age-related disease. **Aging** v. 11, p. 9969-9970, 2019.
- CARMELIET, P. Angiogenesis in life, disease and medicine. **Nature**, 438, n. 7070, p. 932-936, Dec 15 2005.
- CASELLA, I. *et al.* Autocrine-paracrine VEGF loops potentiate the maturation of megakaryocytic precursors through Flt1 receptor. **Blood**, 101, n. 4, p. 1316-1323, Feb 15 2003.
- CIFARELLI, V.; EICHMANN, A. The intestinal lymphatic system: functions and metabolic implications. **Cell Mol. Gastroenterol. Hepatol.** v. 7, p. 503-513, 2019.
- DEL MONACO, S. *et al.* Caracterizacion del canal epithelial de sodio en sinciotrofoblasto de placenta humana preecláptica. **Medicina (Buenos Aires)**, v. 66, n. 1, p.31-35, 2006.
- DENG, H. *et al.* Current Status of Lymphangiogenesis: Molecular Mechanism, Immune Tolerance, and Application Prospect. **Cancers**, v. 15, n. 4, p. 1169, 11 fev. 2023.
- DUBOVA, E. A. *et al.* Vascular Endothelial Growth Factor and its Receptors in the Placenta of Pregnant Women with Obesity. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, v. 151, n. 2, p. 253-258, jun. 2011.
- ENG, L. *et al.* Vascular Endothelial Growth Factor Pathway Polymorphisms as Prognostic and Pharmacogenetic Factors in Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. **Clinical Cancer Research**. v. 18, p. 4526-4537, 2012.
- ESCOBEDO, N.; OLIVER, G. The lymphatic vasculature: its role in adipose metabolism and obesity. **Cell Metab.**, v. 18, p. 598-609, 2017.
- EVANS, A. L. *et al.* Identification of eight novel VEGFR-3 mutations in families with primary congenital lymphoedema. **J Med Genet.** v. 40, p. 697-703, 2003.

FEARNLEY, G. W. *et al.* VEGF-A isoforms differentially regulate ATF-2-dependent VCAM-1 gene expression and endothelial-leukocyte interactions. **Mol Biol Cell**. v. 25, n. 16, p. 2509-21, 2014.

FERRARA, N. Vascular Endothelial Growth Factor. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**. v. 29, n. 6, p. 789–791, jun. 2009.

FRAZER, K. A. *et al.* A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. **Nature**, 449, n. 7164, p. 851-861, 2007/10/01 2007.

GARCÍA-DONAS, J. *et al.* Single nucleotide polymorphism associations with response and toxic effects in patients with advanced renal-cell carcinoma treated with first-line sunitinib: a multicentre, observational, prospective study. v. 12, n. 12, p. 1143–1150, 1 nov. 2011.

GORDON, K. *et al.* FLT4/VEGFR3 an Milroy Disease: Novel Mutations, a Review of Published Variants and Database Update. **Human Mutation**, v. 34, n. 1, p. 23-31, 2013.

HAMRAH, P. *et al.* Novel expression. Of vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR_3 and VEGF-C on corneal dendritic cells. **Am J Pathol**. v. 163, n. 1, p. 57-68, 2003.

HANDELSMAN, Y. *et al.* American Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines for Clinical Practice for Developing a Diabetes Mellitus Comprehensive Care Plan. **Endocrine Practice**, 17, p. 1-53, 2011.

HARVEY, N. L. *et al.* Lymphatic vascular defects promoted by Prox1 haploinsufficiency cause adult-onset obesity. **Nat. Genet**. n. 37, p. 1072-1081, 2005.

HONG, X. *et al.* Serum vascular endothelial growth factor receptor 3 as a potential biomarker in psoriasis. **Experimental Dermatology**, v. 27, n. 9, p. 1053-1057, 1 set. 2018.

IDF. **International Diabetes Federation Diabetes Atlas**, 10th edn. Brussels, Belgium: 2021. Disponível em: <https://www.diabetesatlas.org>

ILJIN, K. *et al.* VEGFR3 gene structure, regulatory region, and sequence polymorphisms. **FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**. v. 15, n. 6, p. 1028–1036, 1 abr. 2001.

IRVIN, M. W. *et al.* Techniques and assays for the study of angiogenesis. **Experimental Biology and Medicine**, v. 239, n. 11, p. 1476-1488, 28 maio 2014.

JIANG, X. *et al.* Lymphatic dysfunction, leukotrienes, and lymphedema. **Annu. Rev. Physiol**. n. 80, p. 49-70, 2018.

JIANG, X. *et al.* The Lymphatic System in Obesity, Insulin Resistance, and Cardiovascular Diseases. **Front Physiol**. v. 10, p. 1402, 2019.

KATARU, R. P. *et al.* Regulation of Lymphatic Function in Obesity. **Frontiers in Physiology**, v. 11, 15 maio 2020.

KHARROUBI, A. T.; DARWISH, H. M. Diabetes mellitus: The epidemic of the century. **World J Diabetes**, 6, n. 6, p. 850-867, Jun 25 2015.

KUONQUI, K. *et al.* Dysregulation of Lymphatic Endothelial VEGFR3 Signaling in Disease. **Cells**, v. 13, n. 1, p. 68–68, 28 dez. 2023.

LIAO, P. Y.; LEE, K. H. From SNPs to functional polymorphism: The insight into biotechnology applications. **Biochemical Engineering Journal**, 49, n. 2, p. 149-158, 2010/04/15/2010.

LIU, R. *et al.* Influence of VEGFR single nucleotide polymorphisms on the efficacy of sunitinib against renal cell carcinoma. **Oncol Lett.** v. 12, n. 1, p. 201-205, 2017.

MAGOLD, A. I.; SWARTZ, M. A. Pathogenic Exploitation of Lymphatic Vessels. **Cells**, v. 11, n. 6, p. 979, 12 mar. 2022.

MAISEL, K. *et al.* Exploiting lymphatic vessels for immunomodulation: Rationale, opportunities, and challenges. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 114, p. 43-59, 15 maio 2017.

MEHRARA, B. J.; GREENE, A. K. Lymphedema and Obesity: Is There a Link? **Plastic and reconstructive surgery**, v. 134, n. 1, p. 154e160e, 1 jul. 2014.

MIAO, C. *et al.* Effects of VEGF and VEGFR polymorphisms on the outcome of patients with metastatic renal cell carcinoma treated with sunitinib: a systematic review and meta-analysis. **Oncotarget**, v. 8, n. 40, p. 68854–68862, 4 ago. 2017.

MONAGHAN, R. M. *et al.* The physiological and pathological functions of VEGFR3 in cardiac and lymphatic development and related diseases. **Cardiovascular Research**, v. 117, n. 8, p. 1877–1890, 17 out. 2020.

NCBI. **rs307826 RefSNP Report - dbSNP - NCBI**. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs307826>. Acesso em: 25 abril. 2024.

NCBI. **Variation Viewer**. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/view/>.

NITTI, M. D. *et al.* Obesity-induced lymphatic dysfunction is reversible with weight loss. **The Journal of Physiology**, v. 594, n. 23, p. 7073-7087, 9 out. 2016.

NORDEN, P. R.; KUME, T. The role of Lymphatic Vascular Function in Metabolic Disorders. **Frontiers in Physiology**, v. 11, 5 maio 2020.

PAJUSOLA, K. *et al.* FLT4 receptor tyrosine kinase contains seven immunoglobulin-like loops and is expressed in multiple human tissues and cell lines. **Cancer Res.** v. 52, n. 20, p. 5738-43, 1992.

PARTANEN, T. A. *et al.* VEGF-C and VEGF-D expression in neuroendocrine cells and their receptor, VEGFR-3, in fenestrated blood vessels in human tissues. **FASEB J.** v. 14, n. 13, p. 2087-96. 2000.

PETROVA, T. V.; KOH, G. Y. Biological functions of lymphatic vessels. **Science**, v. 369, n. 6500, 10 jul. 2020.

PETROVA, T. V.; KOH, G. Y. Organ-specific lymphatic vasculature: From development to pathophysiology. **Journal of Experimental Medicine**, v. 215, n. 1, p. 35-49, 14 dez. 2017.

QIN, C. *et al.* Variantes in angiogenesis-related genes and the risk of clear cell renal cell carcinoma. **Mutagenesis**. v. 29, n. 6, p. 419-25, 2014.

ROCKSON, S. G. *et al.* Exploring disease interrelationships in patients with lymphatic disorders: A single center retrospective experience. **Clinical and Translational Medicine**, v. 12, n. 4, abr. 2022.

SAWANE, M. *et al.* Apelin inhibits diet-induced obesity by enhancing lymphatic and blood vessel integrity. **Diabetes**. v. 62, p. 1970-1980, 2013.

SAWANO, A. *et al.* Flt-1, vascular endothelial growth factor receptor 1, is a novel cell surface marker for the lineage of monocyte-macrophages in humans. **Blood**, 97, n. 3, p. 785-791, Feb 1 2001.

SBD. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes. **Grupo Editora Nacional**. 2017-2018.

SCALLAN, J. P.; HILL, M. A.; DAVIS, M. J. Lymphatic vascular integrity is disrupted in type 2 diabetes due to impaired nitric oxide signalling. **Cardiovasc. Res.** v. 107, p. 89-97, 2015.

SCHWAGER, S.; DETMAR, M. Inflammation and Lymphatic Function. **Front Immunol.** v. 10, p. 308, 2019.

SECKER, G. A.; HARVEY, N. L. Regulation of VEGFR Signalling in Lymphatic Vascular Development and Disease: An Update. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 14, p. 7760, 20 jul. 2021.

SHIBUYA, M.; CLAESON-WELSH, L. Signal transduction by VEGF receptors in regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. **Experimental Cell Research**, v. 312, n. 5, p. 549-560, 10 mar. 2006.

SHUSHANOV, S. *et al.* VEGF_C and VEGFR3 expression in human thyroid pathologies. **International Journal of Cancer**, v. 86, n. 1, p. 47-52, 1 abr. 2000.

STUTTFELD, E.; BALLMER-HOFER, K. Structure and function of VEGF receptors. **IUBMB Life**, v. 61, n. 9, p. 915-922, set. 2009.

TAMMELA, T. *et al.* The biology of vascular endothelial growth factors. **Cardiovascular Research**. v. 65, n. 3, p. 550–563, 15 fev. 2005.

WALTER, J. W. *et al.* Somatic mutation of vascular endothelial growth factor receptors in juvenile hemangioma. **Genes Chromosomes Cancer**. v. 33, n. 3, p. 295-303, 2002.

WONG, B. W. *et al.* Emerging Concepts in Organ-Specific Lymphatic Vessels and Metabolic Regulation of Lymphatic Development. **Developmental Cell**, v. 45, n. 3, p. 289-301, maio 2018.

WU, H. *et al.* Epsin deficiency promote lymphangiogenesis through regulation of VEGFR3 degradation in diabetes. **J. Clin. Invest.** v. 128, p. 4025-4043, 2018.

YIN, N. *et al.* Lymphangiogenesis Is Required for Pancreatic Islet Inflammation and Diabetes. **PloS one**, v. 6, n. 11, p. e28023-e28023, 23 nov. 2011.

ZHENG, W.: ASPELUND, A.; ALITALO, K. Lymphangiogenic factors, mechanisms, and applications. **J. Clin. Invest.** v. 124, p. 878-887, 2014.