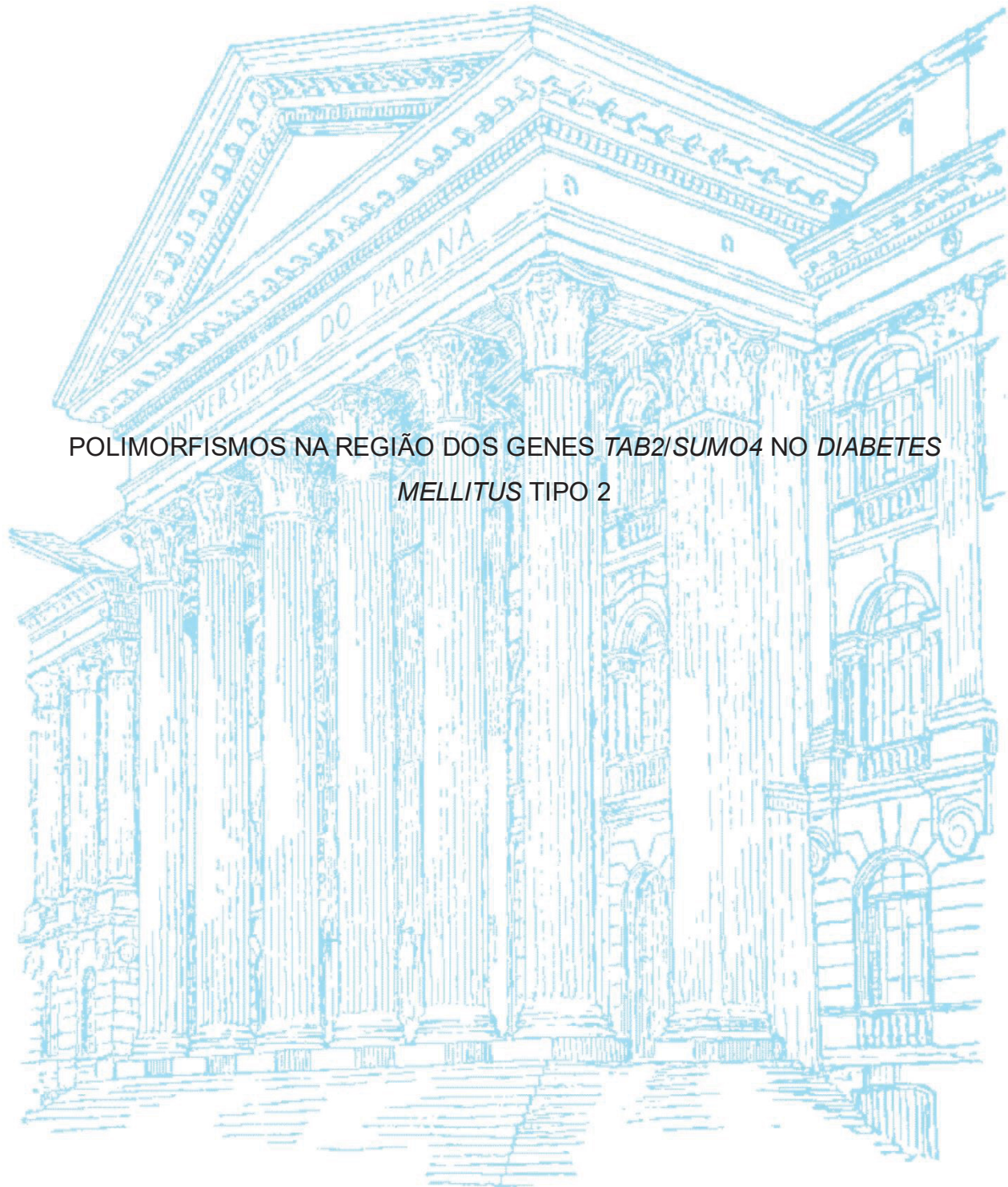


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PAULA ROTHBARTH SILVA



POLIMORFISMOS NA REGIÃO DOS GENES *TAB2/SUMO4* NO *DIABETES MELLITUS* TIPO 2

CURITIBA

2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PAULA ROTHBARTH SILVA

POLIMORFISMOS NA REGIÃO DOS GENES *TAB2/SUMO4* NO *DIABETES
MELLITUS* TIPO 2

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, no programa de Pós-Graduação em Ciências farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Paraná

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

Coorientador: Prof Dr Geraldo Picheth

CURITIBA

2024

FICHA CATALOGRÁFICA

Silva, Paula Rothbarth
Polimorfismos na região dos genes TAB2/SUMO4 no Diabetes *mellitus* tipo 2
[recurso eletrônico] / Paula Rothbarth Silva – Curitiba, 2024.
1 recurso online : PDF

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2024.

Orientador: Profa. Dra. Fabiane Gomes de Moraes Rego
Coorientador: Prof. Dr. Geraldo Picheth

1. Diabetes *mellitus* tipo 2. 2. Sumoilação. 3. População europeia. 4. Resistência à
insulina. I. Rego, Fabiane Gomes de Moraes. II. Picheth, Geraldo. III. Universidade
Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 616.4624

TERMO DA DEFESA



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS - 40001016042P8

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **PAULA ROTHBARTH SILVA** intitulada: **Polimorfismos na região dos genes *TAB2/SUMO4* no Diabetes mellitus tipo 2**, sob orientação da Profa. Dra. **FABIANE GOMES DE MORAES REGO**, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua **APROVAÇÃO** no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 19 de Dezembro de 2024.

FABIANE GOMES DE MORAES REGO

Presidente da Banca Examinadora

MARCEL HENRIQUE MARCONDES SARI

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - UFPR)

MARCIANE WELTER

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

NOTA EXPLICATIVA

Esta dissertação é apresentada em formato alternativo — artigo submetido para publicação — de acordo com as normas do Programa de Pós-Graduação em Ciências farmacêuticas da Universidade Federal do Paraná, constando de uma introdução, e objetivos do trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade de chegar até aqui, por ter me guiado e permitido adquirir novos conhecimentos e crescer pessoalmente e profissionalmente.

Agradeço especialmente a minha família, aos meus pais Paulo e Denise, por sempre estarem ao meu lado apoiando todos os meus sonhos e me ensinando sempre a ser a melhor versão de mim. As minhas irmãs, Fernanda e Renata, e a minha afilhada Clarinha, por sempre estarem presentes para mim. Obrigada pela paciência que todos tiveram comigo mesmo quando eu não tinha com todos vocês, nunca saíram do meu lado e sempre foram, e serão, meus maiores torcedores.

As minhas amigas que entenderam todas as vezes que eu recusei uma cerveja gelada e por não estar tão presente porque precisava estudar e escrever. Vocês também são minha família, obrigada por sempre se fazerem presente quando eu precisei, especialmente durante essa fase. Obrigada por sempre me apoiarem e torcerem por mim.

Agradeço aos meus colegas de laboratório por fazerem o dia a dia mais agradável e divertido quando as coisas ficavam difíceis. Obrigada pelo apoio que vocês me deram quando eu estava surtando e perdendo os cabelos. Um agradecimento especial para meu 'crystal' Mateus, para minha 'casquinha de bala' Nathi e para a Chris, por todos os momentos de descontração e risadas e pelas trocas de conhecimento que tivemos. Vocês foram essenciais para que eu conseguisse chegar até aqui.

Um agradecimento especial a Prof^a Fabiane por ter aceitado me orientar e pela oportunidade de me ajudar a crescer profissionalmente e pelos conhecimentos passados. Agradeço também pelos 'puxões de orelha' quando necessário, toda a experiência me ajudou no meu crescimento. Agradeço também ao Prof Geraldo pela co-orientação durante esse período.

Agradeço a banca avaliadora por terem aceitado avaliar meu projeto de pesquisa, ao tempo dedicado e pela contribuição para o enriquecimento dele.

“Na vida não existe nada a se temer,
apenas a ser compreendido.”

Marie Curie

RESUMO

O *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2) é uma doença crônica em que a hiperglicemia é o principal sintoma, esta comumente associada à resistência ao hormônio insulina, e afeta cerca de 90-95% de todas as pessoas com diabetes. No DM2 ocorre inflamação crônica leve que está associada com resistência à insulina. Como um importante fator transcricional de inflamação, o fator nuclear kappa B (NFkB) está diretamente relacionado com a patogênese do DM. Além disso, a interação de NFkB e o inibidor alfa do fator nuclear kappa B (I κ B α) é fundamental para resistência à insulina. Os genes que codificam a proteína de ligação 2 da proteína quinase 1 ativadora do fator transformador de crescimento β (TAB2) e o pequeno modificador semelhante à ubiquitina 4 (SUMO4) estão envolvidos na regulação do NFkB, podendo assim estarem associados ao DM2. Alguns pesquisadores já relacionaram polimorfismos no gene *SUMO4* ao DM2 em populações asiáticas. O objetivo deste trabalho foi avaliar se os polimorfismos rs237025 (A>G ou M55V), rs237027 (C>T), rs7896 (C>G) e rs6942381(G>C) dos genes *TAB2/SUMO4* estão associados ao DM2, em uma população Sul Brasileira, predominantemente Euro-brasileira (85%). Este estudo caso-controle foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Paraná sob o número CAAE: 01038112.0.0000.0102. Foram incluídos no estudo 275 indivíduos, classificados como controle (sem DM, n=135) e grupo DM2 (n=140), pareados por gênero e idade. O DNA (20 ng/ μ L) extraído por *salting-out*, foi utilizado para as genotipagens com sondas fluorescentes (Taqman SNP genotyping assay, Applied Biosystems) em sistema de PCR em tempo real (7500 Fast real-time PCR (Applied Biosystems). Parâmetros laboratoriais como a glicemia de jejum e HbA1c, entre outros ensaios de rotina foram quantificados em sistema automatizado LabMax 400. A mediana para os grupos controle (46 anos; M/F, 47/88) da HbA1c 5,4% (5,2-5,6%) é diferente ($P<0,001$) do grupo DM2 (50 anos; M/F, 51/89) que apresenta controle glicêmico inadequado com HbA1c 7,5% (6,1-8,8%). Todos os polimorfismos em estudo estão no equilíbrio de Hardy-Weinberg. As frequências alélicas e genotípicas não foram diferentes para todos os polimorfismos nos grupos em estudo ($P>0,05$). Para os grupos controle e DM2, respectivamente, os alelos de menor frequência (MAF) para o rs237025 (Alelo-G), foi 45,6% (95%IC, 40-51) e 48,2% (95%IC, 42-54); rs237027 (Alelo-T), 15,6% (95%IC, 11-20) e 10,7% (95%IC, 7-14); rs7896 (Alelo-G), 22,2% (95%IC, 17-27) e 21,4% (95%IC, 17-26); e rs6942381 (Alelo-C), 47,8% (95%IC, 42-54) e 50,4% (95%IC, 45-56). As frequências MAF dos polimorfismos observadas neste estudo são similares aquelas apresentadas por Europeus (*Ensembl*). Os polimorfismos em estudo não foram associados ao DM2 na população Euro-brasileira em estudo e os alelos para os polimorfismos rs237025, rs237027, rs7896 e rs6943281 dos genes *TAB2/SUMO4* apresentaram frequências similares à população Europeia.

Palavras-chave: SUMOilação; caucasianos; *Diabetes mellitus* tipo 2; SUMO4

ABSTRACT

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a chronic disease in which hyperglycemia is the main symptom, commonly associated with resistance to the hormone insulin, and it affects approximately 90–95% of all people with diabetes. In T2DM, there is a low-grade chronic inflammation associated with insulin resistance. As an important transcriptional factor of inflammation, nuclear factor kappa B (NFκB) is directly related to the pathogenesis of DM. Moreover, the interaction between NFκB and the nuclear factor kappa B inhibitor alpha (IκBα) is fundamental to insulin resistance. The genes encoding the transforming growth factor beta-activated kinase 1 (TAB2) binding protein 2 and the small ubiquitin-like modifier 4 (SUMO4) regulate NFκB and may thus be associated with T2DM. Some researchers have already linked polymorphisms in the SUMO4 gene to T2DM in Asian populations. This study aimed to evaluate whether the polymorphisms rs237025 (A>G or M55V), rs237027 (C>T), rs7896 (C>G), and rs6942381 (G>C) in the TAB2/SUMO4 genes are associated with T2DM in a southern Brazilian population, predominantly Euro-Brazilian (85%). This case-control study was approved by the Ethics Committee of the Federal University of Paraná under the number CAAE: 01038112.0.0000.0102. A total of 275 individuals were included, classified into control (without diabetes, n=135) and T2DM (n=140) groups, matched by gender and age. The DNA (20 ng/μL) extracted by the salting-out method was used for genotyping with fluorescent probes (TaqMan SNP genotyping assay, Applied Biosystems) in a real-time PCR system (7500 Fast Real-Time PCR, Applied Biosystems). Biomarkers such as fasting glucose and HbA1c, among other routine assays, were quantified using the automated LabMax 400 system. The median HbA1c for the control group (46 years; M/F, 47/88) was 5,4% (5,2–5,6%), which was significantly different ($P<0,001$) from the T2DM group (50 years; M/F, 51/89), which exhibited poor glycemic control with an HbA1c of 7,5% (6,1–8,8%). All studied polymorphisms were in Hardy-Weinberg equilibrium. Allele and genotype frequencies did not differ significantly for any polymorphisms between the studied groups ($P>0.05$). For the control and T2DM groups, respectively, the minor allele frequencies (MAF) were as follows: rs237025 (Allele-G), 45,6% (95%CI, 40–51) and 48,2% (95%CI, 42–54); rs237027 (Allele-T), 15,6% (95%CI, 11–20) and 10,7% (95%CI, 7–14); rs7896 (Allele-G), 22,2% (95%CI, 17–27) and 21,4% (95%CI, 17–26); and rs6942381 (Allele-C), 47,8% (95%CI, 42–54) and 50,4% (95%CI, 45–56). The MAF frequencies observed in this study are similar to those reported in European populations (Ensembl). The polymorphisms studied were not associated with T2DM in the Euro-Brazilian population, and the allele frequencies for the polymorphisms rs237025, rs237027, rs7896, and rs6942381 in the *TAB2/SUMO4* genes were similar to those of the European population.

KEY WORDS: SUMOylation; caucasian; Type 2 *diabetes mellitus*; SUMO4

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Influência da interação AGEs-RAGE na inflamação e no estresse oxidativo no diabetes	23
Figura 2 - O ciclo vicioso de inflamação e hiperglicemia.	25
Figura 3 - Vias inflamatórias que conectam a inflamação à resistência à insulina ...	28
Figura 4 - Localização dos polimorfismos da região dos genes TAB2/SUMO4	33

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação do Diabetes mellitus	20
Quadro 2 - Critérios de diagnóstico para o Diabetes mellitus	21

LISTA DE ABREVIATURAS

ADA	American Diabetes Association, Associação Americana de Diabetes
AFT2	Activating transcription fator 2, Fator de transcrição ativador 2
AGE	Advanced glycation end products, produtos finais de glicação avançada
AGL	Ácidos graxos livres
AKT	Protein kinase B, proteína quinase B
AMPK	Adenosine Monophosphate activated protein kinase, proteína quinase ativada por adenosina monofosfato
AP-1	Activator protein 1, proteína ativadora 1
CREB	Cyclic AMP response element binding protein, proteína de ligação ao elemento de resposta ao AMP cíclico
DC	Dendritic cells, Células dentríticas
DCCT	Diabetes Control and Complications Trial, Ensaio de Controle e complicações do diabetes
DM	<i>Diabetes mellitus</i>
DM1	<i>Diabetes mellitus</i> tipo 1
DM2	<i>Diabetes mellitus</i> tipo 2
DMG	<i>Diabetes mellitus</i> gestacional
EUA	Estados Unidos da América
ERK1	Extracellular signal regulated kinase 1, quinase regulada por sinal extracelular
ERK2	Extracellular signal regulated kinase 2, quinase regulada por sinal extracelular
EROs	Espécies reativas de oxigênio
GATA2	Friend of GATA family member 2, cofactor 2 da família GATA
GLUT-2	GLUcose Transporter 2, Transportador de glicose 2
GLUT-4	GLUcose Transporter 4, Transportador de glicose 4
GWAS	Genome Wide Association Studies
HIF-1 α	Hypoxia Inducible fator 1 α , fator indutível de hipóxia 1 α
IDF	Internacional Diabetes Federation, Federação Internacional de Diabetes
I κ B	I κ B kinase, I κ B quinase
I κ B β	Inhibitor of nuclear factor kappa B kinase subunit β , quinase inibidora do fator nuclear-kappa B subunidade β

IKK α	Inhibitor of nuclear factor kappa B kinase subunit α , quinase inibidora do fator nuclear-kappa B subunidade α
IL-1	Interleucina 1
IL-1 β	Interleucina 1 β
IL-1R α	Antagonista do receptor de IL-1
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de Massa Corporal
IRAK	Interleukin 1 receptor associated kinase 1, quinase associada ao receptor da interleucina 1
IRS1	Insulin receptor substrate 1, Substrato do receptor de insulina 1
JAK	Janus kinase, Janus quinase
JNK	c-Jun N-terminal kinase, c-Jun N-terminal quinase
LPS	Lipopolissacarídeo
MAPs	Mitogen activated protein kinase, proteína quinase ativada por mitógeno
MAPK/p38	Mitogen activated protein kinase p38, proteína quinase ativada por mitógeno p38
MyD88	Myeloid differentiation primary response 88, diferenciação mielóide primária 88
NADPH	Fosfato de dinucleotido de nicotinamida e adenina
NF κ B	Nuclear factor kappa B, fator nuclear kappa B
NSGP	National Glycohemoglobin Standardization Program, Programa Nacional de Padronização da Glicohemoglobina
OMS	Organização Mundial de Saúde
PI3K	Phosphatidylinositol 3 kinase, fosfatidinositol 3 quinase
PKB	protein kinase B, proteína quinase B
PTM	Post translational modifications, modificação pós tradicional
RAGE	Receptor for advanced glycation end products, receptor de produtos finais de glicação avançada
RIP1	Kinase adaptor protein 1, Proteína quinase 1 associada ao receptor
SAPK	Stress activated protein kinase, proteína quinase ativada por stress
SDB	Sociedade Brasileira de Diabetes
SNP	Single Nucleotide polimorfismo, polimorfismo de nucleotídeo único
SOCS3	Suppressor of cytokine signaling 3, proteína supressora da sinalização de citocinas 3

STAT	Signal transducer and activator of transcription, transdutor de sinal e ativador de transcrição
STAT3	Signal transducer and activator of transcription 3, transdutor de sinal e ativador de transcrição 3
SUMO	Small Ubiquitin like Modifier, Pequeno Modificador Semelhante a Ubiquitina
SUMO1	Small Ubiquitin like Modifier 1, Pequeno Modificador Semelhante a Ubiquitina 1
SUMO2	Small Ubiquitin like Modifier 2, Pequeno Modificador Semelhante a Ubiquitina 2
SUMO3	Small Ubiquitin like Modifier 3, Pequeno Modificador Semelhante a Ubiquitina 3
SUMO4	Small Ubiquitin like Modifier 4, Pequeno Modificador Semelhante a Ubiquitina 4
SUMO5	Small Ubiquitin like Modifier 5, Pequeno Modificador Semelhante a Ubiquitina 5
TAB1	TAK1 binding protein 1, proteína de ligação 1 da TAK1
TAB2	TAK1 binding protein 2, proteína de ligação 2 da TAK1
TAB3	TAK1 binding protein 3, proteína de ligação 3 da TAK1
TAK1	Tumor growth fator activated kinase 1, proteína quinase 1 ativada por fator de crescimento tumoral
TGF- β	Transforming growth factor β , fator de crescimento transformador β
TLRs	Toll like receptors, receptores do tipo toll
TLR4	Toll like receptor 4, receptor do tipo toll 4
TNF- α	Tumor necrosis fator α , fator de necrose tumoral α
TNFR	TNF- α receptor, receptor de TNF- α
TRAF6	Tumor necrosis fator receptor associated factor 6, fator 6 associado ao receptor de TNF
Ubc13	Ubiquitin conjugating enzyme 13, enzima conjugadora de Ubiquitina 13
Uev1a	Ubiquitin E2 variant 1a, variante 1 ^a da ubiquitina E2

SUMÁRIO

1. Introdução	18
2. Revisão da literatura	20
2.1. <i>Diabetes mellitus</i> (DM).....	20
2.2. <i>Diabetes mellitus</i> tipo 2	24
2.2.1. Genética do DM2	32
3. Objetivos	35
3.1. Objetivo geral	35
3.2. Objetivos específicos	35
4. Resultados e Discussão (Artigo para submissão)	35
5. Conclusões	50
6. Referências bibliográficas	50
Anexo 01 – Termo de aprovação do comitê de ética	62
Anexo 02 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	64
Anexo 03 – Questionário aplicado aos indivíduos participantes da pesquisa.....	67
Anexo 04 – PCR em tempo real Taqman para o SNP rs237025 do gene <i>SUMO4</i>	68
Anexo 05 – PCR em tempo real Taqman para o SNP rs237027 do gene <i>TAB2/SUMO4</i>	69
Anexo 06 - PCR em tempo real Taqman para o SNP rs7896 do gene <i>TAB2/SUMO4</i>	69
Anexo 07 - PCR em tempo real Taqman para o SNP rs6942381 do gene <i>TAB2/SUMO4</i>	70

1. Introdução

A prevalência da *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2) atingiu proporções epidêmicas e estima-se que afete mais de 537 milhões de pessoas em todo o mundo. No Brasil, 1 em cada 10 adultos vive atualmente com diabetes (IDF 2021). O DM2 se manifesta através do desenvolvimento de hiperglicemia em jejum e pós-prandial, que é o principal contribuinte para a indução de inúmeras complicações e comorbidades com risco de vida (Suwazono et al. 2009). A etiologia da hiperglicemia no DM2 é um processo multifatorial complexo (Rizza 2010). No entanto, pode ser resumido para deficiências progressivas na sensibilidade à insulina (ou seja, resistência à insulina) e uma falha correspondente das ilhotas pancreáticas em manter a produção adequada de insulina para compensar o declínio na sensibilidade à insulina (ou seja, falha das ilhotas) (Kahn, Cooper, and Del Prato 2014).

Pacientes com DM2 são caracterizados, em sua maioria, por serem obesos ou apresentarem maior percentual de gordura corporal, distribuída predominantemente na região abdominal. Nessa condição, o tecido adiposo promove a resistência à insulina por meio de vários mecanismos inflamatórios, incluindo aumento da liberação de ácidos graxos livres (AGL) e desregulação da adipocina (Schwartz et al. 2016).

Embora o estilo de vida e a alimentação altamente calórica pareçam ser os fatores patogênicos desencadeadores, elementos genéticos também estão envolvidos na patogênese do DM2. Histórico familiar positivo confere um risco 2,4 vezes maior de DM2. Aproximadamente 15–25% dos parentes de primeiro grau de pacientes com diabetes tipo 2 desenvolvem tolerância à glicose prejudicada ou diabetes (Pierce, Keen, and Bradley 1995).

Acredita-se que vários genes estejam envolvidos, cada um produzindo um pequeno efeito no risco de DM2 (Ahluqvist, Ahluwalia, and Groop 2010). Polimorfismos genéticos que afetam proteínas importantes que participam do metabolismo da glicose e da secreção de insulina também podem afetar a suscetibilidade ao DM2 (Prokopenko, McCarthy, and Lindgren 2008). Estudos de genes candidatos e de associação ampla do genoma (GWAS - *Genome-Wide Association Studies*) revelaram genes associados à inflamação e às vias imunológicas (Hotamisligil 2017). GWAS também revelou genes envolvidos em vias de sinalização inflamatória, dentro de ilhotas endócrinas pancreáticas, adipócitos ou mais sistemicamente na

fisiopatologia da síndrome metabólica que leva ao DM2, como genes envolvidos na regulação do fator nuclear kappa B (NFkB - *Factor Nuclear kappa B*) (Shungin et al. 2015), bem como na sua ativação (Locke et al. 2015).

Dois estudos relataram evidências independentes implicando o *locus TAB2/SUMO4* na suscetibilidade ao DM por meio de um mecanismo bioquímico que envolve NF-kB (Guo et al. 2004; Bennett et al. 1995). O gene *SUMO4* está localizado inteiramente dentro do 6º íntron do gene *TAB2* no cromossomo 6q25 (Bohren et al. 2004). A proteína alfa inibidora do NFkB (I κ B α - *nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor alpha*), um regulador negativo de NF-kB, é um substrato para SUMO4 (Guo et al. 2004). Além disso, o produto do gene *TAB2* regula indiretamente a ativação da c-Jun N-terminal quinase (JNK - *c-Jun N-terminal Kinase*) e NF-kB em resposta à estimulação da interleucina 1 (IL-1 - *InterLeukin 1*) por meio de sua interação com a proteína quinase 1 ativada por TGF-beta (TAK1 - TGF-beta Activated Kinase 1) (Takaesu et al. 2000; Kanayama et al. 2004).

Desta forma, neste estudo avaliamos o papel dos polimorfismos rs6942381, rs237027, rs237025 e rs7896 localizados na região dos genes *TAB2/SUMO4* na população euro brasileira com DM2.

2. Revisão da literatura

2.1. *Diabetes mellitus* (DM)

Diabetes mellitus (DM) é um grupo de distúrbios metabólicos do metabolismo de carboidratos em que a glicose é subutilizada como fonte de energia e superproduzida devido à gliconeogênese e glicogenólise inadequadas, resultando em hiperglicemia (Sacks et al. 2023).

O DM é uma das doenças de emergência global que mais tem crescido no mundo no século 21. Em 2021, a Federação Internacional de Diabetes (IDF) estimou que até 2045 haverá 783 milhões de pessoas entre 20 e 79 anos diagnosticadas com a doença, isso corresponde a um crescimento global de 46% no número de diagnósticos. Até 2045, espera-se um crescimento de 50% no número de casos de diabetes na América Latina. O Brasil encontra-se em 6º lugar no ranking mundial de países com maior número de pacientes com a doença entre adultos de 20 a 79 anos. Espera-se que em 2045 o número de brasileiros diagnosticados chegue a 23,2 milhões de pessoas (IDF 2021). Projeta-se um gasto de cerca de 97 bilhões de dólares até 2030 com o tratamento do diabetes e suas complicações, em um pior cenário esse custo poderá chegar a 123 bilhões de dólares (Bommer et al. 2018).

A classificação da doença leva em consideração metabolismo, genética e outras características fisiopatológicas e é dividida em quatro grupos como observado no quadro abaixo (ADA 2024).

Quadro 1 - Classificação do *Diabetes mellitus*

<i>Diabetes mellitus</i> tipo 1 (DM1)	Destruição autoimune das células β pancreáticas. Pode ser subdividida em: 1A. Imunomediada 1B. Idiopática
<i>Diabetes mellitus</i> tipo 2 (DM2)	Perda progressiva da secreção adequada de insulina pelas células β pancreáticas associada a uma resistência à insulina e síndrome metabólica.
<i>Diabetes mellitus</i> gestacional (DMG)	Diagnosticada até o terceiro trimestre de gestação sem indício prévio da doença.
Tipos específicos de outras causas	- Resultado de doenças pancreáticas (pancreatite, fibrose cística) - Induzidas por drogas

- Síndromes de diabetes monogênicas (como diabetes neonatal e diabetes de início da maturidade dos jovens)
--

Fonte: Adaptado ADA, 2024

O diagnóstico do DM é baseado em critérios de alteração das concentrações plasmáticas de glicose. Além dos exames laboratoriais recomendados, a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) inclui como critério diagnóstico sintomas clínicos que o paciente possa apresentar como poliúria, polidipsia, polifagia e perda de peso espontânea associada a uma glicose casual acima de 200 mg/dL. Na ausência de hiperglicemia inequívoca, o diagnóstico requer dois resultados alterados obtidos ao mesmo tempo ou um parâmetro alterado em dois momentos diferentes. Os critérios laboratoriais de diagnóstico podem ser encontrados no quadro abaixo (ADA 2024).

Quadro 2 - Critérios de diagnóstico para o *Diabetes mellitus*

Glicose em jejum ≥ 126 mg/dL (7,0 mmol/L). Define-se jejum a ausência de ingestão calórica pelo período de no mínimo 8h;
ou
Glicose após sobrecarga de 75 g de glicose: 1h ≥ 209 mg/dL (11,6 mmol/L) e 2h ≥ 200 mg/dL (11,1 mmol/L). O teste é realizado segundo os critérios da OMS, usando uma sobrecarga de glicose equivalente a 75 g de glicose anidra diluída em água;
ou
Hb1Ac $\geq 6,5\%$ (48 mmol/mol). O teste deve ser realizado com o método padronizado e certificado pelo NSGP e padronizado pelo DCCT;
ou
Glicose casual ≥ 200 mg/dL (11,1 mmol/L). Deve ser realizada em pacientes com sintomas clássicos de hiperglicemia ou em crise hiperglicêmica.

OMS: Organização Mundial de Saúde; NSGP: National Glycohemoglobin Standardization Program; DCCT: Diabetes Control and Complications Trial

Fonte: Adaptado ADA, 2024; Bergman et al, 2024

A correta identificação no diagnóstico da doença influencia no tratamento direcionado ao paciente e as complicações que o paciente a longo prazo possa vir a desenvolver (Gross et al 2002). Essas complicações crônicas relacionadas a doença afetam cerca de 56% dos pacientes diagnosticados e existem correlações

significativas em relação a idade, Índice de Massa Corporal (IMC) e o tempo de diagnóstico e duração da doença (Kolaric et al 2022).

O gerenciamento do controle glicêmico exerce papel fundamental no desenvolvimento de complicações microvasculares, uma vez que, as altas concentrações de glicose afetam vasos de diferentes tipos de tecidos. As complicações microvasculares incluem nefropatia, retinopatia e neuropatia periférica diabética. O desenvolvimento dessas complicações microvasculares é um fator de risco importante para doenças macrovasculares, como infarto agudo do miocárdio, insuficiência cardíaca, aterosclerose e acidentes cerebrovasculares (Geiss et al. 2014).

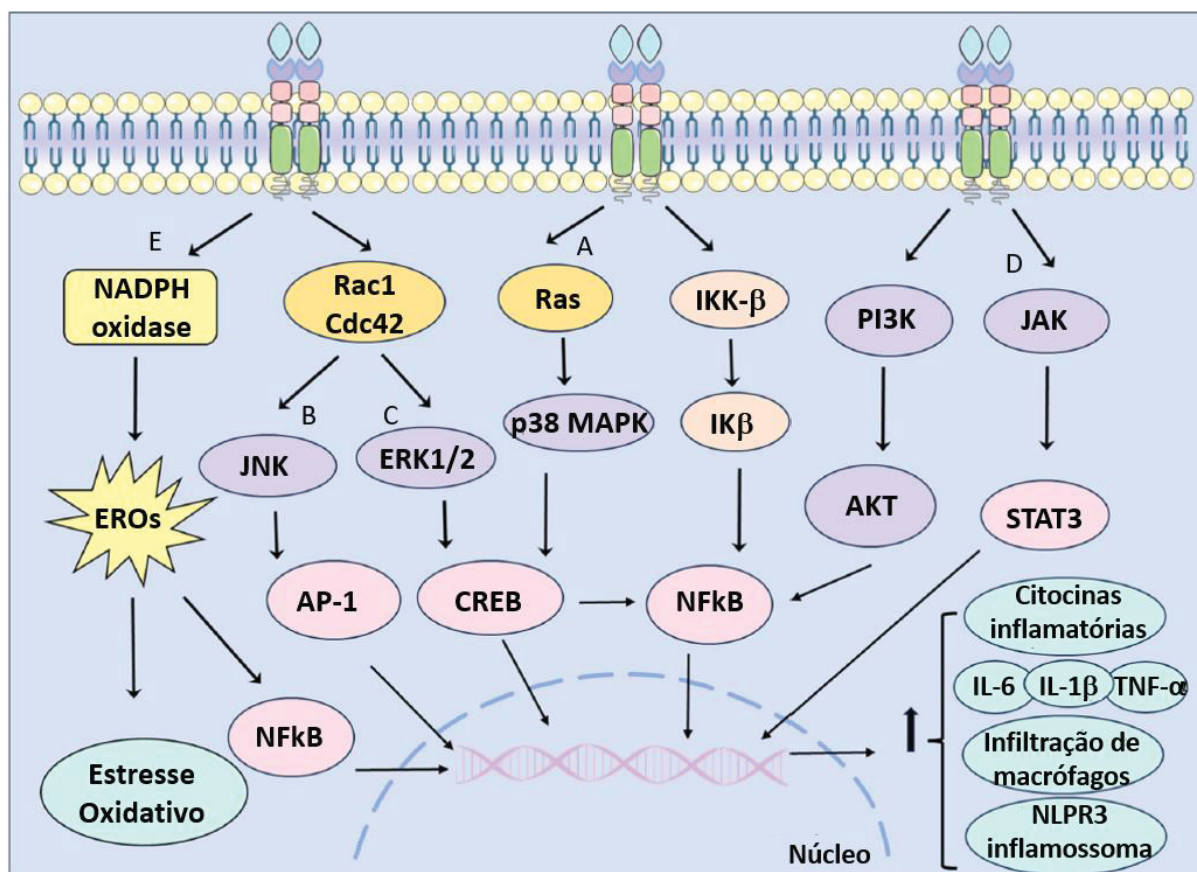
A nefropatia diabética é a principal causa de doença renal crônica, decorrente de complicações microvasculares nos rins, que podem evoluir para insuficiência renal. Segundo a ADA, pacientes diabéticos são diagnosticados com nefropatia quando apresentam uma taxa de filtração glomerular estimada ≤ 60 ml/min/1,73 m² e albuminúria aumentada (≥ 30 mg/g de creatinina) persistente por mais de três meses (Bhatti et al., 2022; Cole, Florez, 2020).

A neuropatia diabética, por sua vez, afeta frequentemente os membros inferiores, causando sintomas como formigamento, dormência e perda sensorial devido à destruição do sistema nervoso periférico e autônomo (Bhatti et al. 2022). Essa condição aumenta o risco de desenvolvimento de úlceras e infecções nos pés, que podem evoluir para amputações (Cole, Florez, 2020).

As complicações do diabetes são as principais responsáveis pela morbimortalidade entre os pacientes com a doença (Cole, Florez, 2020). Em 2019, estima-se que aproximadamente 4,2 milhões de mortes de adultos com diabetes ocorreram, sendo a maioria atribuída a eventos cardiovasculares associados à doença (IDF 2019; SBD 2019-2020; Kleinberger, Pollin 2015).

A hiperglicemia persistente, principal fator no desenvolvimento de suas complicações associadas, aumenta as concentrações plasmáticas de produtos finais de glicação avançada (AGEs - *Advanced Glycation End Products*). Esses compostos ativam diversas vias de transdução de sinal ao se ligarem ao receptor RAGE (*Receptor for Advanced Glycation End Products*). O acúmulo excessivo de AGEs, promovido pelas intensas reações de glicação em um ambiente com alta concentração de glicose, leva à superativação do receptor RAGE (Figura 1). (Kalea, Schmidt, Hudson 2009; Kislinger et al. 1999).

Figura 1 – Influência da interação AGE-RAGE na inflamação e no estresse oxidativo no diabetes



A ligação de AGE ao seu receptor RAGE estimula diversas cascatas de sinalização intracelular, como as vias JAK/STAT (D), NADPH oxidase (E), MAPK/p38 (A), ERK 1 e ERK 2 (C), JNK (B). Essas vias levam à ativação de fatores de transcrição, como NFκB e ISRE, promovendo o aumento da expressão de mediadores pró-inflamatórios e a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs). Adaptado de Zhou e colaboradores (Zhou et al. 2024)

A ativação do receptor RAGE por AGE desencadeia múltiplas vias de sinalização intracelular, incluindo MAPK/p38, SAPK/JNK (proteína quinase ativada por stress/ c-Jun N-terminal quinase), ERK1/2 (quinase regulada por sinal extracelular 1/2) e JAK/STAT (Janus quinase/transdutor de sinal e ativador de transcrição). Por um lado, a interação AGE-RAGE regula a expressão e atividade de diversos fatores de transcrição, com destaque para o NFκB, considerado o mais relevante. A ligação de AGE-RAGE ativa moléculas de sinalização a jusante, como p38, MAPK e JNK, culminando na ativação do NFκB. Uma vez ativado, o NFκB transloca-se para o núcleo, onde modula a expressão de genes relacionados à inflamação, apoptose celular e citocinas, como TNF-α (Fator de necrose tumoral α), IL-1β (Interleucina-1β) e IL-6 (Interleucina-6), promovendo respostas inflamatórias, morte celular e danos teciduais. Além disso, a ativação da via AGE-RAGE também induz a geração de estresse oxidativo, estimulando a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs)

por meio de diferentes mecanismos, como a ativação da NADPH oxidase, disfunção mitocondrial e aumento da expressão da proteína NOX. As EROs intensificam o estresse oxidativo intracelular, desestabilizando o equilíbrio redox e causando danos oxidativos e desnaturação celular. Esse aumento no estresse oxidativo também intensifica as respostas inflamatórias e os danos teciduais no diabetes, principalmente por meio da ativação da via NFκB e da expressão de mediadores inflamatórios, criando um ciclo vicioso. A ativação sustentada de fatores de transcrição, como NFκB, STAT3 (Transdutor de sinal e ativador de transcrição 3), HIF-1α e AP-1 (Proteína ativadora 1), perpetua essas respostas, contribuindo para a progressão das complicações associadas ao diabetes (Zhou et al. 2024).

2.2. *Diabetes mellitus* tipo 2

O DM2 é o tipo mais prevalente de diabetes, correspondendo a cerca de 90-95% dos casos diagnosticados (ADA 2024). No Brasil, a prevalência estimada do DM2 é de 9,2%, variando de 6,3% na região Norte a 12,8% na região Sudeste (Muzy et al. 2021).

O DM2, geralmente acompanhado por outras manifestações da síndrome metabólica, é uma doença metabólica complexa com múltiplos mecanismos subjacentes não totalmente compreendidos, enquanto a resistência à insulina e a disfunção das células β são dois mecanismos fisiopatológicos principais (Mulder 2017; Festa et al. 2000).

Obesidade, envelhecimento, sedentarismo, disfunção de células β, acúmulo de lipídios no tecido, estresse oxidativo, estresse do retículo endoplasmático em células β e inflamação do tecido são os fatores mais comumente conhecidos ligados à resistência à insulina e progressão para o DM2 (Goldfine, Fonseca, Shoelson 2011).

A inflamação persistente e o aumento do estresse oxidativo desempenham papéis cruciais no desenvolvimento da resistência à insulina, o que, por sua vez, contribui para a hiperglicemia. Paralelamente, os níveis elevados de glicose promovem a geração de radicais livres, desencadeando inflamação crônica. Essa interação entre inflamação, estresse oxidativo, resistência à insulina e hiperglicemia cria um ciclo vicioso, que intensifica os danos metabólicos e aumenta o risco de complicações associadas ao diabetes (Figura 2) (Weinberg et al 2024).

Figura 2 - O ciclo vicioso de inflamação e hiperglicemia.



A inflamação e o estresse oxidativo contribuem para a resistência à insulina, levando a hiperglicemia. Paralelamente, os altos níveis de glicose desencadeiam inflamação crônica. Este ciclo vicioso aumenta o risco de complicações relacionadas ao diabetes.
Adaptado de Weinberg et al (2024)

Na resistência à insulina, os tecidos-alvo do hormônio, como tecido adiposo branco, músculo esquelético e fígado (Chawla, Nguyen, Goh 2011), tornam-se menos sensíveis à sua ação, mesmo sob concentrações normais de glicose sérica. Esse estado reduz o efeito antilipolítico da insulina, favorecendo a síntese de triglicerídeos no fígado. Além disso, a resistência à insulina está associada a uma maior liberação de AGL, que podem ser absorvidos por diferentes órgãos e se acumular como gordura ectópica, especialmente em locais como fígado e coração (Gaggini et al. 2013). A resistência à insulina é um distúrbio multifatorial, envolvendo alterações como defeitos na transdução de sinal do receptor de insulina e disfunção mitocondrial (Abdul-Ghani, DeFronzo 2010; Ahn et al. 2014), disfunção microvascular (Muris et al. 2013; Karaca et al. 2014) e inflamação (Shoelson, Lee, Goldfine 2006; Cai 2013; Könnner, Brüning 2011). A obesidade, caracterizada por um estado de inflamação crônica de baixo grau induzida pelo excesso de alimentação, é um dos principais fatores de risco para resistência à insulina (Mohanraj et al. 2013; Daniele et al., 2014; Osborn, Olefsky 2012).

Na obesidade, o acúmulo de lipídios nos adipócitos ativa vias de sinalização como JNK e NFκB, levando a um aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF-α e IL-6 (Shoelson, Lee, Goldfine 2006; Sharma et al. 2013). O tecido adiposo, além de ser um importante local de resistência à insulina induzida pela obesidade, e influencia o fígado e músculos a liberação de citocinas, como adipocinas

e TNF- α (Shoelson, Lee, Goldfine 2006; Ramadori, Kroy, Streetz 2015). Dentre os vários tipos celulares do tecido adiposo, adipócitos e células imunes, como macrófagos e células dendríticas (DCs), têm papel de destaque na conexão entre inflamação e resistência à insulina, reforçando o papel inflamatório da obesidade nesse contexto (Shoelson, Lee, Goldfine 2006).

A patofisiologia multifatorial do DM2 destaca o papel proeminente de diversas citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β , TNF- α e IL-6. Essas citocinas, liberadas principalmente pelo tecido adiposo, promovem inflamação não apenas no próprio tecido, mas também nas células β das ilhotas pancreáticas, culminando na resistência à insulina (Zhao, Feng, Chen 2006; Tilg, Moschen 2008; Ehses et al. 2009).

Altas concentrações de glicose (Maedler et al. 2003) e AGLs estimulam a produção de IL-1 β e de outras citocinas pró-inflamatórias dependentes de IL-1 β (Böni-Schnetzler et al. 2008, 2009). Uma vez induzida, a IL-1 β regula sua própria produção nas ilhotas pancreáticas por meio de um mecanismo de autoestimulação (Akash et al. 2012). Além disso, a secreção de IL-1 β pelas células β eleva a produção de óxido nítrico, o que reduz os níveis de ATP mitocondrial, causando disfunção celular e diminuindo de secreção de insulina (Arafat et al. 2007; Yang et al. 2010).

O TNF- α é amplamente reconhecido como um elemento central na conexão entre inflamação e resistência à insulina, ao modular as vias IKK β /NF κ B e JNK, ambas relacionadas à resistência à insulina (Tilg, Moschen 2008). No tecido adiposo, a superprodução de TNF- α induz inflamação e morte celular nas ilhotas pancreáticas, exacerbando a resistência à insulina nos tecidos periféricos (Rosenvinge et al. 2007). Embora o papel da IL-6 no DM2 seja considerado complexo e, por vezes, controverso, estudos experimentais demonstram que essa citocina induz resistência à insulina em tecidos periféricos (Fève, Bastard 2009; Akash et al. 2012), além de contribuir para a apoptose de células β em sinergia com outras citocinas inflamatórias (Akash et al. 2012; Pradhan et al. 2001). A IL-6 também inibe proteínas de sinalização citocínica, agravando a disfunção metabólica (Pradhan et al. 2001). Devido a esses efeitos prejudiciais, a IL-6 é considerada um fator de risco independente, bem como um marcador patogênico para a resistência à insulina e a progressão do DM2 (Tilg, Moschen 2008).

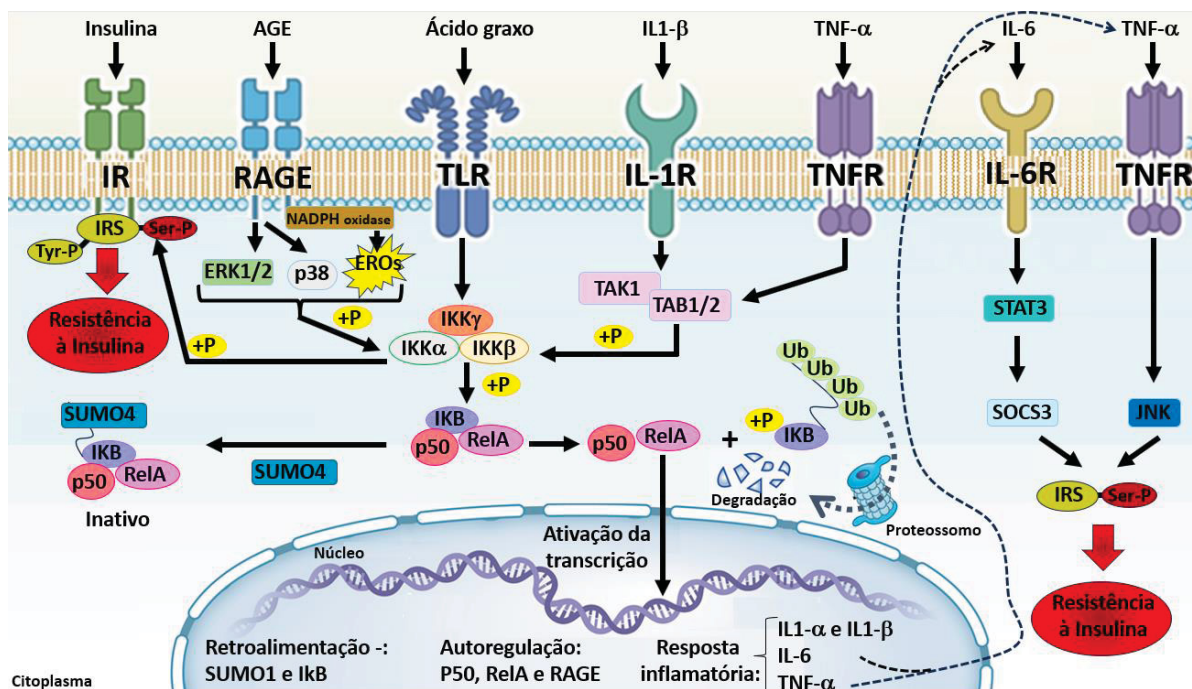
A resistência à insulina nos tecidos periféricos está associada a diversas vias metabólicas que induzem inflamação e ativação de quinases de estresse, como a quinase inibidora do fator nuclear-kappa B (IKK β) e a JNK, ambas fundamentais na

patogênese do DM2 (Figura 3) (Shoelson, Lee, Goldfine 2006). A IKK β estimula a ativação do NF κ B, que promove a produção de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-1 β , principalmente no fígado e tecido adiposo. Essas citocinas intensificam a resistência à insulina em tecidos periféricos (Arkan et al. 2005).

Por outro lado, a JNK ativa fatores de transcrição, como ATF2 e ELK1, desempenhando um papel crucial na resposta inflamatória e na progressão do diabetes (Solinas, Karin 2010). Durante a obesidade, caracterizada como uma condição inflamatória crônica de baixo grau, os níveis elevados de citocinas e AGLs ativam a JNK em diferentes tecidos. Essa ativação está associada à resistência à insulina induzida pela obesidade e à redução na secreção compensatória de insulina, características marcantes do DM2. Além disso, a hiperglicemia também contribui para a ativação da JNK (Yung, Giacca 2020).

O NF κ B, um fator de transcrição composto por proteínas da família Rel, como p65/RelA, RelB, c-Rel, p50/p105 e p52/p100, regula genes relacionados à produção de citocinas e à resposta inflamatória. Sob condições normais, o NF κ B é mantido inativo no citoplasma, ligado às proteínas I κ B, impedindo sua translocação para o núcleo. No entanto, estímulos patológicos, como obesidade e hiperglicemia, ativam o complexo IKK, composto pelas subunidades IKK α e IKK β , promovendo a fosforilação de I κ B α nos resíduos de serina 32 e 36. Essa modificação induz a degradação de I κ B α , liberando o NF κ B para translocar-se ao núcleo, onde regula positivamente genes relacionados a mediadores inflamatórios, como TNF- α , IL-1 β e IL-6 (Figura 3) (Yin, Yamamoto, Gaynor 1998; Lee, Lee 2014).

Figura 3 - Vias metabólicas que conectam a inflamação à resistência à insulina



NF κ B é um fator de transcrição composto por proteínas da família Rel, como p65/RelA e p50/p105. Em condições normais, ele permanece no citoplasma, ligado à proteína I κ B, o que impede sua translocação para o núcleo. Entretanto, diante de estímulos patogênicos, como os observados em indivíduos obesos e com DM2, incluindo AGE, AG, TNF- α , IL-1 β , o complexo IKK, composto por duas subunidades (IKK α e IKK β) é ativado. Isso leva à fosforilação e degradação de I κ B α , expondo a sequência de localização nuclear do NF κ B, que migra para o núcleo e ativa genes que codificam mediadores inflamatórios (TNF- α , IL-1 β e IL-6). A ativação do complexo IKK é frequentemente mediada por outro conjunto de quinases. O eixo AGE-RAGE, por exemplo, desencadeia estresse oxidativo via NADPH oxidase e inflamação através das vias MAPK (ERK1/2 e p38), ativando fatores de transcrição como o próprio NF κ B. Esse fator de transcrição, por sua vez, forma um *loop* positivo que aumenta a expressão de RAGE, sustentando a ativação das vias intracelulares e seus efeitos. Ácidos graxos saturados, que estão elevados na obesidade, ativam TLR4, o que estimula o complexo IKK por meio da via MyD88/IRAK/TRAF6. De maneira semelhante, a ligação IL-1 e TNF- α aos seus respectivos receptores ativa a via TAK1 via interação com TAB2 e TAB3. A ativação das vias JNK e NF κ B resulta na fosforilação da serina do IRS-1 ou IRS-2, bloqueando a sinalização da insulina e contribuindo para a resistência à insulina. Além disso, as vias JNK e NF κ B também aumentam a produção de citocinas pró-inflamatórias, que reforçam a ativação dessas mesmas vias. O TNF- α , em particular, promove resistência à insulina ao estimular a lipólise em adipócitos, ativando as vias JNK e IKK β /NF κ B, que intensificam a fosforilação de serina/treonina do IRS-1. Já a IL-6 induz a resistência à insulina ao reduzir a expressão de GLUT-4 e IRS-1, ativando a via JAK-STAT e aumentando a expressão de SOCS3, um inibidor da sinalização da insulina.

Adaptado de Dai e colaboradores (2012), Chen e colaboradores (2015), Muthyalaiiah e colaboradores (2021)

A interação AGE-RAGE ativa diversas vias de sinalização intracelular. A ativação do RAGE intensifica a atividade da NADPH oxidase, resultando na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) intracelulares. Esse aumento nas EROs, por sua vez, desencadeia a ativação de várias vias de sinalização a jusante, incluindo MAPs (quinases ativadas por mitógenos), ERK1 e ERK2 ativadas por Ras, SAPK (proteína quinase ativada por estresse), JNK, MAP quinase p38, GTPase/Rac1-

Cdc42, PI3K (fosfatidilinositol 3 quinase), PKB ou AKT (proteína quinase B) e JAK-STAT (Janus quinase e transdutor de sinal ativador de transcrição). Essas vias culminam na ativação de diversos fatores de transcrição nuclear, como NFkB, AP-1 (proteína ativadora 1) e o STAT3 (transdutor de sinal e ativador de transcrição 3) (Zong, Ward, and Stitt 2011; Lander et al. 1997; Fages et al. 2000; Leclerc et al. 2007; Taguchi et al. 2000; Yeh et al. 2001).

Os ácidos graxos saturados podem se ligar ao receptor TLR4 (*Toll-Like Receptor 4*) ativando suas vias de sinalização. (Pal et al. 2012; Huang et al. 2012). Tanto os ácidos graxos saturados quanto os lipopolissacarídeos (LPS) utilizam vias de sinalização comuns mediadas por TLR4, envolvendo os seguintes mecanismos: as vias MyD88/IRAK/TRAF6 (resposta de diferenciação mieloide primária 88/quinase associada ao receptor de interleucina 1/fator 6 associado ao receptor de TNF) que levam a ativação da IKK. A fosforilação da subunidade IKK α pela quinase I κ B, resultando na degradação de I κ B e permitindo que o NFkB transloque-se para o núcleo, onde se liga ao DNA e regula a expressão de genes pró-inflamatórios. E a via da PI3K/PKB, levando à ativação de NFkB. A PKB pode aumentar a atividade transcricional de NFkB por meio da fosforilação direta de RelA independente da degradação de IKK α . Essas vias resultam na amplificação da resposta inflamatória, mediada principalmente pelo fator de transcrição NFkB (Sizemore et al. 2002; Sizemore, Leung, and Stark 1999; Madrid et al. 2000; Madrid et al. 2001; Koul et al. 2001).

A interação de IL-1 e do TNF- α com seus respectivos receptores ativa o complexo da quinase TAK1 (Proteína quinase 1 ativada por fator de crescimento tumoral). Esse complexo é composto pela quinase TAK1 e três subunidades reguladoras: TAB1 (Proteína ligadora 1 da TAK1) que regula diretamente a atividade catalítica da TAK1, TAB2 (Proteína ligadora 2 da TAK1) e TAB3 (Proteína ligadora 3 da TAK1) que atuam na ativação da TAK1 por meio de sua ligação à ubiquitina. Esse mecanismo desempenha um papel crucial na transdução de sinais inflamatórios e na ativação de vias de sinalização a jusante (Dai et al. 2012). A ligação da IL-1 ao seu receptor ativa a TAK1 por meio de uma via comum que envolve as quinases associadas ao receptor de interleucina-1, IRAK1 e IRAK4. Essas quinases recrutam o TRAF6 e seus cofatores, incluindo a Ubc13 (Enzima conjugadora de ubiquitina 13) e Uev1a (Variante 1ª da ubiquitina E2). De maneira semelhante, o TNF- α ativa a TAK1 por meio de um mecanismo mediado pelo TNFR (receptor de TNF- α), que interage

com a RIP1 (Proteína quinase 1 associada ao receptor) e TRAF2. A ativação das atividades de ubiquitina ligase de TRAF2 e TRAF6, em conjunto com as proteínas acessórias Ubc13 e Uev1a, resultam na geração de cadeias de poliubiquitina ligadas à lisina 63. Essas cadeias se associam às proteínas adaptadoras TAB2 e TAB3, que facilitam a ativação de TAK1. Uma vez ativada, a TAK1 transduz o sinal para o NFκB desencadeando as respostas inflamatórias. (Sizemore et al. 2002; Sizemore, Leung, and Stark 1999; Madrid et al. 2000; Madrid et al. 2001; Koul et al. 2001).

As citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-1 β e IL-6, cuja produção é regulada pela ativação do NFκB, também são capazes de estimular tanto o NFκB quanto a JNK por meio de mecanismos de retroalimentação positiva, envolvendo seus respectivos receptores (TNFR, IL1R e IL6R) (Donath and Shoelson 2011; Shoelson, Lee, and Goldfine 2006). Além dessas vias, AGLs e AGEs contribuem para a resistência à insulina e o desenvolvimento do DM2 por meio da ativação de receptores TLRs e receptores RAGE (Shi et al. 2006). Esses estímulos extracelulares interagem com receptores de superfície celular, ativando vias intracelulares que convergem para as cascatas JNK e NFκB. Essa ativação ocorre em tecidos como o fígado e tecidos adiposos, promovendo a produção aumentada de TNF- α , IL-1 β , e IL-6 (Sabio et al. 2008). Além disso, a hiperglicemia e a superprodução de IL-1 β em células β das ilhotas pancreáticas ativam diretamente o NFκB. O bloqueio dessa ativação, utilizando antagonistas do receptor IL-1R α de origem natural, tem demonstrado proteger as células β contra diversos efeitos deletérios (Akash et al. 2012; Eldor et al. 2006).

A ativação persistente de fatores de transcrição, como NFκB, JNK e MAPK, desempenha um papel central na regulação negativa da via de sinalização da insulina, resultando no desenvolvimento de resistência à insulina (He et al. 2022), conforme mostrado na Figura 3. Especificamente, a ativação de NFκB (Hayden and Ghosh 2014) e JNK (Sutherland, McKinley, and Eckel 2004) promove a fosforilação em resíduos de serina no IRS1 (Substrato do receptor de insulina 1), o que compromete a transdução do sinal de insulina e contribui para o estabelecimento da resistência à insulina. Além disso, o NFκB exerce um papel essencial na regulação da expressão gênica, influenciando particularmente genes como *GLUT2* (*GLucose Transporter-2*), que é fundamental para a secreção de insulina das células β (Ganesan, Ramkumar, and Xu 2020).

A IL-6, secretada por diversos tecidos, especialmente pelo tecido adiposo, contribui a resistência à insulina ao reduzir a expressão do transportador GLUT-4 (*GLUcose Transporter-4*) e do IRS-1. Esses efeitos são mediados pela ativação da via de sinalização JAK-STAT e pelo aumento da expressão da proteína SOCS3 (proteína supressora da sinalização das citocinas 3) (Lukic et al. 2014; Serrano-Marco et al. 2012) (Figura 3). Além disso, IL-6 induz a resistência à insulina ao bloquear a via da PI3K, comprometendo a síntese de glicogênio por meio da regulação negativa do microRNA-200s (miR-200s) e da regulação positiva a do cofator de GATA 2 (Dou et al. 2013; Yin et al. 2014). Também foi proposto que a resistência à insulina no músculo esquelético está associada à estimulação da IL-6, que induz a expressão do gene do receptor TLR-4 por meio da ativação de STAT3 (Kim et al. 2013).

O TNF- α , uma é uma citocina pró-inflamatória originada do tecido adiposo, promove a resistência à insulina ao intensificar a lipólise nos adipócitos e aumentar a fosforilação de serina/treonina do IRS-1 (Shoelson, Lee, and Goldfine 2006; Hotamisligil 2000). Diversas vias de sinalização, incluindo a via IKK β /NF κ B, desempenham um papel crucial na patogênese da resistência à insulina (Figura 3) (Kahn, Hull, and Utzschneider 2006; Zhou and You 2014). Estudos indicam que o TNF- α pode aumentar a captação de glicose em adipócitos viscerais e subcutâneos ao ativar a via da AMPK (Proteína quinase ativada por adenosina monofosfato). Contudo também desencadeia resistência à insulina em adipócitos viscerais por meio da ativação da JNK1/2. Dado o impacto específico do TNF- α nos diferentes depósitos adiposos na captação de glicose, estratégias para tratar a resistência à insulina focada na modulação dessa sinalização estão sendo desenvolvidas (Fernández-Veledo et al. 2009).

Acredita-se que a SUMOilação no DM2 afete a secreção de insulina, a exocitose granular e a insensibilidade à insulina (Hu et al. 2022). Trata-se de uma modificação pós-traducional (PTM) essencial, na qual proteínas são conjugadas a pequenas proteínas modificadoras semelhantes à ubiquitina (SUMO – Small Ubiquitin like Modifier) em cadeias laterais de lisina. As proteínas submetidas a SUMOilação não apenas são modificadas de forma reversível, mas também são protegidas da degradação proteossômica induzida por ubiquitina. Isso ocorre, porque tanto a SUMO quanto a ubiquitina competem pelo mesmo resíduo de lisina no substrato (Guo and Henley 2014). Quando a conjugação da proteína é realizada com SUMO, a ligação com à ubiquitina é impedida, evitando assim sua degradação (Yang et al. 2017).

A família SUMO, composta por proteínas encontradas em mamíferos, inclui cinco isoformas: SUMO1, SUMO2, SUMO3, SUMO4 e SUMO5. O SUMO2 e SUMO3 apresentam 95% de similaridade estrutural entre si, mas compartilham apenas 45% de similaridade com SUMO1. Por sua vez, SUMO4 exibe 86% de similaridade com SUMO2/3. Apesar da semelhança estrutural, estudos indicam que essas proteínas possuem diferentes localizações no organismo, sugerindo que desempenhem funções distintas (Bursomanno et al. 2015).

O SUMO4 demonstrou suprimir a transcrição de NF κ B (Guo et al. 2004) ao regular negativamente sua atividade transcricional. Esse efeito ocorre por meio da conjugação de SUMO4 com I κ B α , prevenindo sua degradação induzida (Figura 3) (Wei et al. 2008; Desterro, Rodriguez, Hay 1998). Além disso, SUMO4 atua como antioxidante, protegendo as células β pancreáticas contra danos oxidativos e promovendo a sua sobrevivência (Guo et al. 2004).

2.2.1. Genética do DM2

O DM2 tem um componente genético significativo, com herança estimada entre 20% e 80%, cujas evidências são recuperadas de vários estudos populacionais, familiares e baseados em gêmeos (Meigs, Cupples, and Wilson 2000; Poulsen et al. 1999). Mais de 100 *loci* genéticos ligados a um risco elevado de DM2 foram identificados e relatados por meio de estudos de associação em todo o genoma (GWAS) (Udler et al. 2018). Esses *loci* são responsáveis por aproximadamente 10%–15% da predisposição genética à doença e participam de várias vias biológicas que incluem função das células β , secreção de insulina e resistência à insulina (Ali 2013).

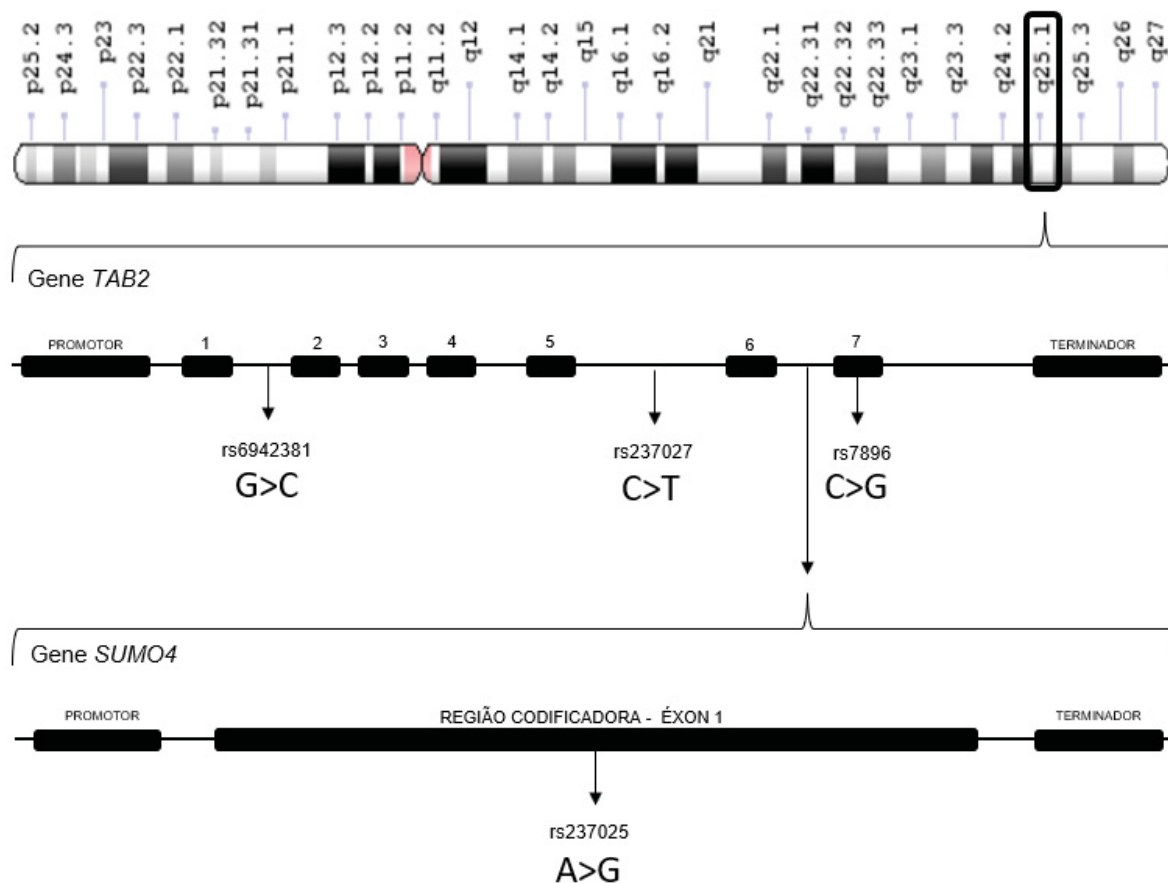
Devido ao fato de NF κ B influenciar significativamente o desenvolvimento de DM2 (Akash, Rehman, and Chen 2013), genes envolvidos na sua regulação (Shungin et al. 2015), bem como na sua ativação (Locke et al. 2015) tem despertado interesse. Dois estudos relataram evidências independentes implicando os genes *TAB2* e *SUMO4*, localizados no cromossomo 6 na região 6q25, na suscetibilidade ao DM por meio de um mecanismo bioquímico que envolve NF κ B (Guo et al. 2004; Bennett et al. 1995).

O gene *TAB2* é codificado por sete exons, abrangendo 94 kb (Owerbach, Pinã, and Gabbay 2004) (Figura 4). O gene *TAB2* codifica a proteína TAB2 envolvida na sinalização celular das vias de inflamação, resposta ao estresse e imunidade inata.

Sua principal função é a ativação da TAK1, proteína quinase que regula a via do NFκB (Figura 4) (Dai et al. 2012).

O gene *SUMO4*, constituído por apenas um único éxon, está localizado no íntron 6 do gene *TAB2* e abrange 688 bp, codifica a proteína de mesmo nome composta por 95 aminoácidos (Figura 4) (Bohren et al. 2004).

Figura 4 - Localização dos polimorfismos da região dos genes *TAB2/SUMO4*



O polimorfismo rs6942381 está localizado no íntron 1, o rs237027 está localizado no íntron 5 e o rs7896 está localizado no éxon 7 do gene *TAB2*. Já o rs237025 está localizado no único éxon que o gene *SUMO4* possui, que também é a região codificadora da proteína.

Fonte: Adaptado de Ensembl, Lopes, M 2020

Associações de mapeamento de polimorfismos para *SUMO4* e na região ao seu redor foi reportada com o DM1 (Owerbach, Pinã, and Gabbay 2004; Guo et al. 2004) e DM2 (Noso et al. 2007; Ji, Dai, Xu 2010). O polimorfismo rs237025 localizado no éxon 1 de *SUMO4* (Figura 4) possui uma única alteração de um par de bases (A → G) que causa uma mudança de aminoácido de metionina (M) para valina (V) na posição 55 (M55V) da proteína formada. Este polimorfismo foi fortemente associado ao DM1; além disso, tem um potencial variante 'causal', já que a substituição M55V

pareceu influenciar a atividade do NFkB (Guo et al. 2004; Wang and She 2008). Posteriormente, esta observação inicial foi um assunto de intenso debate por causa da falha em replicar a associação em diversas populações caucasianas (Zhang et al. 2017; Smyth et al. 2005; Kosoy, Concannon 2005; Qu et al. 2005). Desde o estudo inicial, o polimorfismo também foi associado a complicações diabéticas (Lin et al. 2007; Rudofsky et al. 2008). Esses estudos forneceram evidências inequívocas que apoiam uma função crítica do SUMO4 em muitas doenças inflamatórias.

Outros polimorfismos que se encontram em alto desequilíbrio de ligação ($D' > 0,92$), como o rs237027 (C>T), rs6942381 (G>C) e rs7896 (G>C) localizados no íntron 5, no íntron 1 e no éxon 7 de *TAB2* respectivamente, foram associados ao DM1 (rs6942381 e rs237027) (Owerbach, Pinã, and Gabbay 2004).

Dois estudos mostraram que o polimorfismo rs237025 ou de um polimorfismo próximo com alelos em forte desequilíbrio ligação com rs237025, afeta o risco de DM1 nas populações dos EUA e do Reino Unido. Contudo, Owerbach e colaboradores (2004) associaram o risco ao alelo A e Guo e colaboradores (2004) ao alelo G. Além disso, Kosoy e Concannon não conseguiram replicar esta associação na população americana. Embora Guo e colaboradores (2004) relataram aumento da atividade transcricional de NFkB em associação com o alelo G, nenhuma variação significativa específica do alelo em tal atividade foi observada no estudo de Bohren e colaboradores (2004).

Uma meta-análise concluiu que indivíduos portadores do alelo G do polimorfismo rs237025 do gene *SUMO4* podem ser mais suscetíveis ao DM2 na população chinesa (Li et al. 2017). Contudo, não foi encontrado estudos brasileiros com estes quatro polimorfismos.

3. Objetivos

3.1. Objetivo geral

Investigar a variabilidade genética na região dos genes *TAB2/SUMO4* em indivíduos com DM2 e seus respectivos controles saudáveis de uma população majoritariamente euro-brasileira do sul do Brasil.

3.2. Objetivos específicos

- Determinar as frequências genótípicas e alélicas para os polimorfismos rs6942381, rs237027, rs237025 e rs7896 de *TAB2/SUMO4* em indivíduos euro-brasileiros saudáveis e com DM2.
- Determinar a concentração sérica de biomarcadores de perfil glicêmico, perfil lipídico, perfil nutricional, função renal nos grupos controle e DM2.
- Buscar correlação da variabilidade genética encontrada na população estudada com dados antropométricos e perfil bioquímico, através de análises estatísticas, para determinar se a região do gene *TAB2/SUMO4* está associada ao DM2.

4. Resultados e Discussão (Artigo para submissão)

Polymorphisms in the *TAB2/SUMO4* Gene and Their Association with Type 2 *Diabetes Mellitus*: Insights from a Southern Brazilian Population

Paula Rothbarth Silva¹, Mateus Santana Lopes¹, Nathália Marçallo Peixoto Souza¹,
Christiane Mayhofer Grocoske de Lima¹, Geraldo Picheth¹, Fabiane Gomes de Moraes
Rego^{1,2}

¹ Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Brasil

² Departamento de Análises Clínicas, Curso de Farmácia, Universidade Federal do Paraná, Brasil

Autor Correspondente

Dra Fabiane Gomes de Moraes Rego*

Departamento de Análises Clínicas, Curso de Farmácia, Universidade Federal do Paraná, BR
Rua Prefeito Lothário Meissner, 632, 80210-170 Curitiba, PR, Brasil

E-mail: rego@ufpr.br; fgmrego@gmail.com

ABSTRACT

Type 2 *diabetes mellitus* (T2DM) is a chronic disease in which hyperglycemia is the main symptom. This disease has an important genetic influence and a single nucleotide polymorphism (SNP) can influence the condition and its consequences. Several genes have already been associated with diabetes such as *SUMO4* in the Asian population. This project aimed to study if there was an association between T2DM and SNP on the *TAB2/SUMO4* gene region in euro-Brazilian population. The rs6943281(G>C), rs237027 (C>T), rs237025 (G>A), rs7896(C>G) were selected. This case-control study was approved by the Federal University of Paraná's Ethics Committee under the CAAE number: 01038112.0.0000.0102. A total of 275 individuals (135 control and 140 diabetic patients) were included in the study. Anthropometric data and blood samples were collected from both groups. The DNA was extracted from the buffy coat and then genotyped using real-time PCR on Taqman technology. The serum was used to determine the biomarkers using Labmax 400. It was considered statistically significant $p < 0,05$. As expected, the glycated hemoglobin for the control group (46 years; M/F; 47/88) and T2DM group (50 years; M/F; 51/89) was statistically different ($p < 0,001$). All SNPs were in Hardy-Weinberg equilibrium. All the allelic and genotype frequencies for all polymorphisms were similar for both groups. For control and T2DM, respectively, the minor allelic frequency for rs237025 (G allele) was 45,6% (95%CI, 40-51) and 48,2% (95%CI,42-54); rs237027 (T-allele) was 15,6% (95%CI,11-20) and 10,7% (95%CI,7-14); rs7896 (G-allele) 22,2% (95%CI,17-27) and 21,4% (95%CI,17-26) and rs6942381 (C- allele) was 47,8% (95%CI,42-54) and 50,4% (95%CI,45-56). In conclusion, none of these polymorphisms were associated with the susceptibility to developing type 2 *diabetes mellitus*.

KEYWORDS: Type 2 diabetes, *SUMO4*, SUMOylation, caucasian

Introdução

A Federação Internacional de Diabetes (IDF), em seu último senso realizado em 2021, informou que no mundo um em cada dez adultos (20-79 anos) tem diabetes. Nesse mesmo ano, o número de pacientes com a doença diagnosticada totalizava 537 milhões de pessoas e o gasto global com o tratamento desses pacientes chegou a 966 bilhões de dólares. A estimativa é que até 2045 o número de diagnósticos cresça 46% e na América Latina o número de casos duplique. No ranking, o Brasil se encontra em 6º lugar entre os países com maior número de adultos com a doença, e em 2045 espera-se que 23,2 milhões de brasileiros tenham diabetes (ADA 2024). Um estudo realizado pela Global Economic Burden of Diabetes in Adults estima que o Brasil tenha uma despesa de 97 bilhões de dólares com o tratamento de pacientes diabéticos até 2030. Num pior cenário, esse custo pode chegar a 123 bilhões de dólares (Bommer et al 2018).

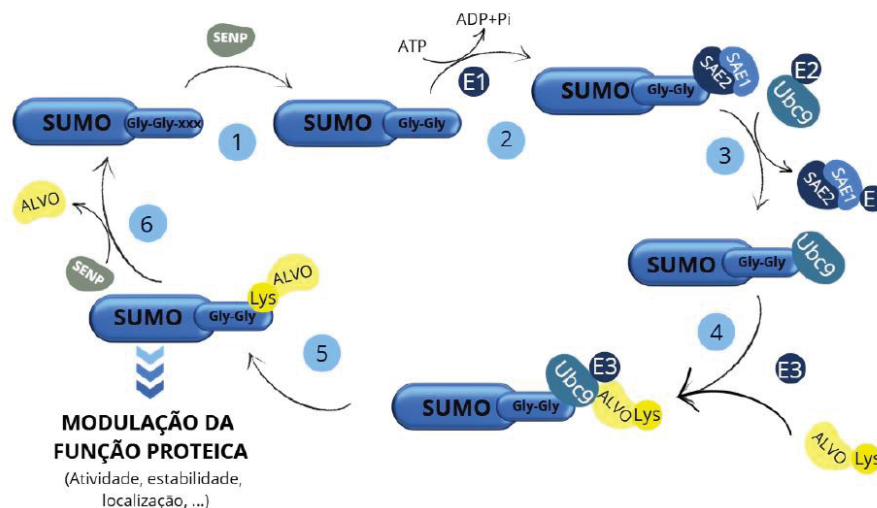
O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é um grupo de desordens metabólicas do metabolismo do carboidrato que tem como principal característica a hiperglicemia (ADA 2024). É uma doença complexa e de caráter poligênico em que a hiperglicemia crônica pode resultar em resistência à insulina e está associado a obesidade (Piché, Tchernof, Després 2020). Fatores genéticos estão associados ao DM2 e vários genes e polimorfismos já foram associados a susceptibilidade e a progressão à doença, especialmente genes envolvidos nas funções específicas das ilhotas pancreáticas (Akhlaghipour et al 2022). Um exemplo é o gene *TCF7L2*, que desempenha um papel crucial na regulação da secreção de insulina e no metabolismo da glicose (Geoghegan et al 2019; Krentz, Gloyn 2020). O gene *MTNR1B* está associado à hiperglicemia em jejum, secreção reduzida de insulina e aumento do risco de DM2. O gene *SLC30A8* é responsável por controlar a homeostase do zinco, essencial para a função e sobrevivência das células β , além de estar envolvido na síntese, armazenamento e estabilidade da insulina, protegendo as células contra o estresse oxidativo. Por fim, alterações no gene *PAM* resultam em uma capacidade reduzida das células β de mobilizar insulina em resposta à glicose (Eizirik, Pasquali, Cnop 2020; Krentz, Gloyn 2020). O gene *SUMO4* tem despertado o interesse de pesquisadores em diversas populações devido a sua associação com o DM2 (Li et al 2017).

O gene *SUMO4* (OMIN 608829) codifica proteínas da família SUMO (Small Ubiquitin-like Modifier), cuja função é a SUMOilação, essencial para manutenção da homeostase celular (Cheng et al 2023). Esse gene está localizado no cromossomo 6, na região 6q25, no íntron 6 do gene *TAB2*, esse que é indispensável para a ativação das células β , e desempenha um papel crucial na resposta de anticorpos específicos para antígenos e possui um papel importante no processo inflamatório (Woods et al 2022; Yang et al 2021; Zaliunas et al 2024). A proteína SUMO é classificada como uma proteína de modificações pós-traducional, que são proteínas que estão relacionadas a estabilidade e localização celular, transporte celular núcleo-citoplasma, regulação de transcrição gênica, regulação do ciclo celular influenciando tanto proliferação como apoptose (Hu et al 2022; Huang, Yang, Lin 2024). A atividade dessas proteínas de modulação pós-traducional ocorrem principalmente em organelas de alta síntese proteica, como o retículo endoplasmático, que é constantemente influenciado por fatores fisiológicos e ambientais. Acredita-se que o estresse do retículo endoplasmático e o estresse oxidativo sejam a resposta mais plausível em relação aos efeitos que as PTM exercem sobre o diabetes (Hu et al 2022).

A SUMOilação é um mecanismo de modificação pós traducional que consiste na conjugação de uma proteína SUMO a um resíduo de lisina na proteína alvo (Hajmrle et al 2014). Esse

processo é reversível, as proteínas são desumoiadas por proteases específicas sentrina/proteases SUMO específicas (SENPs) (Lopes 2020). Alguns pesquisadores já relatam que a SUMOilação é um processo que protege contra a apoptose em ilhotas pancreáticas e que a regulação positiva de SENPs prejudica a função das ilhotas e sua viabilidade (Hajmrl et al 2014). O processo de SUMOilação nas células β pancreáticas é importante para o crescimento e regulação das células iniciais. Esse processo ocorre através da proteína associada ao domínio da morte (Daxx). Daxx é induzida por moléculas de interferon do tipo 1 (IFN-1) e interage com Pax5 para direcioná-lo na via de ativação ou repressão transcricional, regulando assim o desenvolvimento das células β . A próprio Daxx pode sofrer SUMOilação e suprimir o crescimento das células β iniciais. A SUMOilação de Daxx nos resíduos de lisina 630 ou 631 são importantes para a translocação nuclear em células pró- β e supressão da apoptose das células induzidas por IFN-1. Além dessa participação, a proteína SUMO age na regulação das funções das células β maduras, células β do centro germinativo e plasmócitos. A ligação com SUMO regula a sinalização do receptor de células β (β CR), alguns estudos mostram que SUMO molda o limiar do sinal de β CR que implica na tolerância imunológica e autoimunidade (Huang, Yang, Lin 2024).

Figura 01: Mecanismo de SUMOilação



A SUMO é sintetizada na sua forma inativa. (1) São ativadas através da atividade da SENP e (2) através de uma reação ATP dependente se conjuga a enzima SAE1/SAE2. (3) A enzima Ubc9 E2 facilita a transesterificação da reação formando o complexo SUMO-Ubc9. (4) Através da enzima E3 ligase que catalisa a reação de SUMOilação com a proteína alvo, (5) convertendo o conjugado em um complexo de SUMO-Alvo através da ligação com o resíduo de lisina do alvo. (6) A reação é reversível, e SUMO pode ser removida do substrato através da SENP. Fonte: Adaptado Wild, 2024

Alguns polimorfismos, como o rs237025, promovem uma substituição de uma metionina por uma valina na proteína SUMO formada (Guo et al 2004). Essa substituição modifica a proteína e o sítio de fosforilação, importante para a estrutura conformacional e atividade dessa proteína. Guo et al (2004) observaram uma importante redução na SUMOilação em pacientes com diabetes tipo 1 que apresentavam essa alteração. Além disso, a presença desse polimorfismo pode acarretar num aumento da atividade de NFkB. Pesquisas, como a de Owerbach et al. (2004), indicam que esse polimorfismo pode influenciar a apoptose de células

β pancreáticas e ativar a via do NF κ B. O estudo mostra que alterações no gene *SUMO4* foi associado a um aumento na atividade do NF κ B, uma vez que essa troca pode interferir na capacidade do SUMO de se ligar à I κ Ba (Inhibitor of Kappa Ba). O SUMO liga-se à I κ Ba mantendo esse fator inativo no citoplasma e com isso regula a atividade de fatores do NF κ B. Fisiologicamente o NF κ B está envolvido em processos críticos como inflamação, sobrevivência celular, angiogênese e apoptose (Hwang et al 2012; Lin et al 2007; Hu et al 2022).

Vários estudos com populações asiáticas já correlacionaram o polimorfismo no gene *SUMO4* com a predisposição ao desenvolvimento de DM1, e ele também foi associado a susceptibilidade de desenvolver DM2 em populações chinesas, japonesas e turcas (Lin et al 2007; Sozen et al 2017). No entanto, pesquisas com pacientes de DM1 em populações não asiáticas não encontraram essa associação, e ainda são escassos os estudos sobre DM2 fora do contexto asiático. Além disso, os polimorfismos na região do gene *SUMO4* foram associados a algumas complicações comuns da doença, como no estudo de Sinha et al (2016) que relacionou o polimorfismo com a severidade do quadro de nefropatia diabética e Shimada et al (2009) que encontrou associação de doença arterial coronariana em pacientes DM2.

Alguns autores sugerem que a região do gene *TAB2/SUMO4* estão envolvidos na patogenia do diabetes e alguns dos polimorfismos dessa região seriam o rs237025 e o rs237027 (Sun et al 2016). Além disso, existe a hipótese de que essa região estaria em desequilíbrio de ligação (Nosso et al 2007). Além dos polimorfismos citados acima, foram selecionados o rs6942381 e o rs7896 para o presente estudo.

Diante de resultados conflitantes na literatura, a influência do gene *TAB2/SUMO4* continua a ser um tema controverso entre os pesquisadores. Assim, este trabalho visa realizar uma análise genotípica em um estudo caso-controle, focando em pacientes diagnosticados com DM2 em uma população do sul do Brasil, majoritariamente composta por euro-brasileiros. Os polimorfismos rs237027, rs237025, rs7896 e rs6942381, serão avaliados neste estudo, além de investigar se esses polimorfismos possuem influência nos níveis plasmáticos dos biomarcadores utilizados para diagnóstico e controle da doença.

Materiais e Métodos

Amostras

O projeto de pesquisa tem aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE: 01038112.0.0000.0102). Foram incluídos no estudo um total de 275 adultos, maiores de 18 anos que assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, de Curitiba e região metropolitana, no Estado do Paraná.

Os participantes não diabéticos são considerados aqueles que não apresentavam condições médicas relevantes, ênfase em histórico de doenças crônicas como doença renal, doença cardíaca ou diabetes. As amostras de 135 indivíduos provenientes do Banco de Sangue do Hospital de Clínicas da UFPR (HC-UFPR) foram utilizadas.

O critério de diagnóstico de *diabetes mellitus* segue a diretriz da American Diabetes Association (ADA 2024) e da Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD 2024). Resumidamente uma glicemia em jejum ≥ 126 mg/dL ou Hb1Ac $\geq 6,5\%$ ou glicose 2h após sobrecarga de 75g de glicose ≥ 200 mg/dL. Foram selecionadas amostras de 140 pacientes com diagnóstico de

diabetes mellitus tipo 2 da Unidade de Diabetes do Serviço de Endocrinologia e Metabologia do HC-UFPR.

As amostras de soro (coletadas em tubo com gel separador SST II Advance BD Vacutainer®) e as amostras de sangue total (coletadas em tubo de EDTA K2 BD Vacutainer®) dos participantes do estudo foram utilizadas para a determinação dos biomarcadores. As amostras que apresentavam icterícia, hemólise ou lipemia foram excluídas do estudo. Já os dados antropométricos foram obtidos através de entrevista com os participantes ou através do prontuário médico.

Genotipagem

O método utilizado para extrair o DNA genômico foi o *salting out*. Nesse processo são extraídos leucócitos do buffy coat, camada de células brancas formada após a centrifugação do tubo de EDTA K3, e as proteínas celulares sofrerem desidratação e precipitação em solução de cloreto de sódio saturada (Lahiri; Numberger, 1991).

A quantificação do DNA foi realizada por espectrofotometria nos comprimentos de onda de 260 e 280nm (NanoDrop®, Thermo Scientific). Amostras com quantificações menores que 20ng/μL foram excluídas e/ou a razão de pureza A_{260}/A_{280} foram menores que 1,8 ou maiores que 2,0 por caracterizarem amostras contaminadas. Todas as amostras de DNA foram diluídas com água ultrapura estéril para a concentração final de 20ng/μL.

A genotipagem dos polimorfismos do gene *TAB2/SUMO4* (rs237025, rs237027, rs7896, rs6942381) foram realizados por PCR em tempo real por sondas Taqman SNP *genotyping assay* (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), em que utiliza uma polimerase que cliva as sondas oligonucleotídicas hibridizadas com o DNA alvo gerando um sinal fluorescente.

Biomarcadores

As dosagens dos parâmetros bioquímicos de função renal e nutricional, perfil lipídico e o controle glicêmico foram realizadas em sistema automatizado LabMax 400 (Labtest AS) utilizando calibradores, controles e reagentes apropriados no Laboratório de Bioquímica Clínica da UFPR.

Os marcadores usados no estudo para controle glicêmico foram a glicose e a hemoglobina glicada (Hb1Ac), para função renal foram dosados uréia e creatinina, proteínas totais e albumina como função nutricional, além da dosagem do perfil lipídico composto pelo colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol e triglicérides para avaliação do risco cardiovascular.

Análise estatística

Para variáveis contínuas a normalidade foi verificada com o teste Kolmogorov-Smirnov e não apresentaram distribuição normal. Estas variáveis foram apresentadas como mediana e intervalo interquartil (25%-75%) e comparadas com o teste U de Mann-Whitney. Variáveis categóricas foram apresentadas como “n” e porcentagem (%) e comparadas com o teste de Chi-quadrado.

O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi calculado através do programa DeFinetti (<http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>). Para as frequências alélicas foi calculado o intervalo

de confiança de 95% (95%IC). Para comparações com outras populações, frequências acima ou abaixo do 95%IC foram consideradas diferentes.

Os programas Statistica (Cloud Software Group, USA), data Science Workbench (version 14) e GraphPad Prisma (version 10.0.0, GraphPad Software Group, USA) foram usados para realizar as análises. A probabilidade menor que 5% ($p < 0,05$) foi considerada significativa.

Resultados

Dados Antropométricos

As informações demográficas e clínicas são representadas na tabela abaixo. Os grupos foram pareados por gênero e idade.

Podemos observar uma diferença significativa em relação aos dois grupos para o IMC ($p < 0,001$), assim como para o peso ($p < 0,001$) e altura ($p < 0,001$).

Dos pacientes do grupo DM2 que participaram da pesquisa, 65% apresentam histórico familiar de diabetes (pais, irmãos ou avós) já diagnosticados com a doença. Além disso, dentre as complicações relacionadas ao diabetes, 15% dos pacientes já apresentam algum problema de visão, 10% apresentam alterações renais e quase 8% apresentam neuropatia diabética. Ainda, mais de 70% dos pacientes apresentam hipertensão arterial.

Tabela 01: Dados antropométricos e clínicos do grupo controle e DM2

Parâmetro	Controle (n 135)	DM2 (n 140)	P
Idade (anos)	46 (43-51)	50 (43-54,5)	0,062*
Homens/Mulheres	47/88	51/89	0,802*
Peso (kg)	74 (64-82)	80 (70-90)	< 0,001
Altura (m)	1,65 (1,60-1,71)	1,60 (1,55-1,67)	< 0,001
IMC	26,5 (23,6-29,7)	30,8 (26,7-35,6)	< 0,001
Tempo de DM (anos)	-	8 (4-12)	-
Histórico familiar DM (%)	-	65	-
Hipertensão arterial (%)	-	71,4	-
Retinopatia (%)	-	15	-
Neuropatia (%)	-	7,8	-
Nefropatia (%)	-	10	-

LEGENDA: IMC: Índice de massa corporal (peso/altura²); DM: *diabetes mellitus*. Os resultados estão apresentados como mediana e intervalo interquartil (25%-75%) e o valor de p, probabilidade, teste U de Mann-Whitney. *Valor de p, probabilidade, Chi². Destacado em negrito $p < 0,05$.

Parâmetros bioquímicos

Os parâmetros de perfil glicêmico foram diferentes entre os dois grupos estudados, apresentando $p < 0,001$ tanto para glicose como hemoglobina glicada.

As concentrações dos parâmetros do perfil lipídico foram semelhantes para o colesterol total ($p=0,905$) porém para o HDL- colesterol ($p < 0,001$), LDL- colesterol ($p=0,020$) e triglicerídeos ($p=0,023$) foram diferentes.

Uma diferença significativa também foi encontrada para ureia ($p < 0,001$), creatinina ($p < 0,001$), proteína total ($p < 0,001$) e albumina ($p < 0,001$) entre os dois grupos analisados.

Na tabela abaixo encontram-se os resultados das concentrações séricas dos biomarcadores dosados nas amostras do grupo controle e do grupo diabético utilizado no estudo.

Tabela 02: Parâmetros bioquímicos dos grupos controle e DM2

Parâmetros	Controle	DM2	P
Glicose (mg/dL)	96 (84-106)	127 (101-181)	< 0,001
Hb1Ac (%)	5,4 (5,2-5,6)	7,5 (6,1-8,8)	< 0,001
Colesterol total (mg/dL)	175 (159-197)	178,5 (152-216)	0,905
HDL-colesterol (mg/dL)	54 (44-63)	40,5 (33-49)	< 0,001
LDL-colesterol (mg/dL)	94 (82-113)	104 (84-131)	0,020
Triglicérides (mg/dL)	132 (88-176)	151,5 (103,5-199,5)	0,023
Proteína total (g/dL)	6,8 (6,59-7,22)	8,2 (7,59-8,86)	< 0,001
Albumina (g/dL)	3,9 (3,80-3,99)	4,1 (3,97-4,44)	< 0,001
Uréia (mg/dL)	24 (21,0-28,0)	30- (25,5-36,5)	< 0,001
Creatinina (mg/dL)	0,58 (0,48-0,70)	0,80 (0,70-0,98)	< 0,001

LEGENDA: Os resultados estão apresentados com mediana e intervalo interquartil (25%-75%) e o valor de p, probabilidade, teste U de Mann-Whitney. Destacado em negrito $p < 0,05$.

Análise molecular

A distribuição genotípica para o rs237025 não apresentou diferença significativa entre os dois grupos estudados ($p=0,593$), nem entre os modelos recessivo ou dominante. No caso desse polimorfismo, o alelo de menor frequência (MAF), G, não demonstrou diferença entre os grupos ($p=0,532$). Analisando o rs237027, ambos os grupos não apresentaram diferença para análise genotípica ($p=0,089$) quanto para o alelo T de menor frequência ($p=0,092$). O modelo dominante ($p=0,715$) e recessivo ($p=0,948$) para o rs7896 não apresentaram diferença entre os grupos estudados. O último polimorfismo estudado, o rs6942381 não apresentou diferença significativa entre os grupos estudados para nenhuma análise, genotípica ($p=0,722$) ou alélica ($p=0,595$). Importante ressaltar que todos os genótipos se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

As frequências alélicas e genótípicas dos polimorfismos estudados (rs237025, rs237027, rs7896, rs6942381) dos dois grupos podem ser visualizados na tabela abaixo (Tabela 3).

Tabela 03: Frequências alélicas e genótípicas dos polimorfismos da região do gene *SUMO4* nos grupos controle e DM2

Polimorfismos	Genótipos	Controle	DM2	P	
rs237025 G>A	Alelos	n (%)	n (%)		
	AA	40 (29,6)	41 (29,3)	0,593	
	AG	67 (49,6)	63 (45,0)		
	GG	28 (20,8)	36 (25,7)		
	MAF	Alelo G %	45,6	48,2	0,532
	[95%IC]	[40-51]	[42-54]		
Dominante	AA vs AG+GG	40/98	41/99	0,956	
Recessivo	GG vs AG+AA	28/107	36/104	0,329	
rs237027 C>T	CC	95 (70,4)	113 (80,8)	0,089	
	CT	38 (28,1)	24 (17,2)		
	TT	2 (1,5)	3 (2,0)		
	MAF	Alelo T %	15,6	10,7	0,092
		[95%IC]	[11-20]	[7-14]	
Dominante	CC vs CT+TT	95/40	113/27	0,457	
Recessivo	TT vs CT+ CC	2/133	3/140	0,699	
rs7896 C>G	CC	81 (60,0)	87 (62,2)	0,885	
	CG	48 (35,5)	46 (32,8)		
	GG	6 (4,5)	7 (5,0)		
	MAF	Alelo G %	22,2	21,4	0,821
		[95%IC]	[17-27]	[17-26]	
Dominante	CC vs CG+GG	81/54	87/53	0,715	
Recessivo	GG vs CG+ CC	6/129	7/133	0,948	
rs6942381 G>C	GG	37 (27,5)	37 (26,4)	0,722	
	CG	67 (49,6)	65 (46,4)		
	CC	31 (22,9)	38 (27,2)		
	MAF	Alelo C %	47,8	50,4	0,545
		[95%IC]	[42-54]	[45-56]	
Dominante	GG vs CG+CC	37/98	37/103	0,855	
Recessivo	CC vs CG+ GG	31/104	38/102	0,425	

LEGENDA: Valores são reportados como n (%). P, probabilidade, Teste Chi² para os genótipos e frequência alélica. 95%IC: 95% Intervalo confiança. Equilíbrio de Hardy-Weinberg (valor p) para rs237025 para controles (0,995) e DM2 (0,242), rs237027 para controles (0,406) e DM2 (0,218), rs7896 para controles (0,739) e DM2 (0,774) e rs6942381 para controles (0,949) e DM2 (0,218). MAF: sigla em inglês para alelo de menor frequência.

As análises alélicas e genótípicas foram comparadas com outras populações. Foi utilizado o intervalo de confiança de 95% para essa análise e foram considerados semelhantes ao presente estudo populações que apresentaram o MAF dentro desse intervalo.

Tabela 04 – Comparação alélica e genotípica da população em estudo com outras populações para o rs237025

Grupo étnico	Característica	N	Genótipo (%)			Alelo
			AA	AG	GG	MAF (%)
Presente estudo	DM2	140	29,30	45,00	25,70	48,2
	Controle	135	29,63	49,63	20,74	45,6

Turcos (Sozen,S et al, 2014)	DM2	124	43,5	50,8	5,6	31,3
	Controle	104	15,4	81,7	2,9	44,0
Iranianos (Fallah,S. et al,2010)	DM2	50	20	44	36	58,0
	Controle	50	26	50	24	49,0
Japoneses (Shimada,T et al, 2009)	DM2	874	45,2	45	9,8	32,3
	Controle	905	45,5	45,8	8,7	31,6
Indianos* (Sinha,N et al, 2016)	DM2	216	32,9	47,7	19,4	42,8
	DN	201	26,3	44,3	29,4	51,4
Chineses (Li,H et al, 2016)	DAC	200	44	43	13	34,5
	Controle	200	56	38	6	25,0
Taiwaneses (Lin,H et al, 2007)	DM2 Normo	253	52,6	40,7	6,7	27,1
	DM2 Micro	112	45,5	47,3	7,1	30,9
	DM2 Macro	65	36,9	46,2	16,9	40,0
Euro-brasileiros (Lopes,M, 2020)	DM1	145	26,2	53,8	20	46,9
	Controle	155	24,5	54,8	20,7	48,1
Americanos**	Controle	694	36	47,3	16,7	40,3
Europeus**	Controle	1006	24,3	47,9	27,8	51,8

DN: diabéticos com nefropatia; DAC: doença arterial coronariana; Normoalbuminúria, Microalbuminúria, Macroalbuminúria. IC95%: controle [40-51] e DM2 [42-54]; *O estudo de Sinha e colaboradores não utilizou uma população controle sem diabetes para o estudo, por isso não é considerado semelhante a nossa população; **Ensembl. Em negrito populações semelhantes ao estudo.

Tabela 05 – Comparação do MAF dos polimorfismos rs237027, rs7896 e rs6942381 com demais populações

Polimorfismos	rs237027	rs7896	rs6942381
Etnia			
Alelo MAF	T	G	C
Euro-Brasileiros (presente estudo) [95%CI]	15.6 [11-20]	22.2 [17-27]	47.8 [42-54]
Africanos*	20	24	33
Americanos*	13	19	41
Leste-Asiáticos*	9	9	26
Europeus*	11	25	54
Asiáticos*	10	19	50
Todos*	13	20	40

Comparação do grupo controle do estudo com demais populações. Frequências em porcentagem (%). Em negrito populações consideradas semelhantes. *Ensembl.

Discussão

Ao analisarmos os biomarcadores dos grupos estudados, as diferenças encontradas nos valores de referência entre ambos confirmam o critério de seleção. O grupo controle, para todos os parâmetros analisados, se encontra dentro do valor de referência estipulado. Ao analisar o outro grupo podemos observar que o controle de glicemia, apesar de não estar dentro do estipulado

pela Sociedade Brasileira de Diabetes (2024), são valores próximos ao esperado de 7%. Em relação aos demais marcadores, podemos observar que os pacientes não possuem distúrbios proteicos e os resultados do perfil renal mostram que esse grupo não apresenta lesão renal relevante. Em relação ao perfil lipídico, podemos observar a característica clássica de dislipidemia comum em pacientes DM2, em que apresenta valores elevados de LDL-colesterol e triglicérides e HDL-colesterol mais baixo (Piché, Tchermof, Després 2020).

Guo et al. (2004) foi pioneiro ao identificar a associação do polimorfismo rs237025 com o *diabetes mellitus* tipo 1 (DM1) em uma população multiétnica. Desde então, estudos relataram associações semelhantes em diversas populações asiáticas para diferentes doenças, incluindo o DM2. Dados funcionais mostram que o *SUMO4* inibe a transcrição do fator NFκB em células de sangue periférico; no entanto, pacientes com o genótipo GG demonstraram maior atividade deste fator. Essa disfunção pode contribuir de forma significativa para a deterioração das células β pancreáticas, resistência à insulina e desenvolvimento do diabetes (Shimada, 2009). Alterações no gene *SUMO4* podem aumentar a transcrição de genes relacionados à resposta imunológica, mesmo sem inflamação externa, promovendo a liberação de interleucinas e intensificando a ativação do NFκB. Esse fator desempenha um papel central em processos inflamatórios, angiogênese e apoptose de células β pancreáticas (Lin et al 2007; Sozen et al 2014). No presente estudo, o genótipo GG não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos analisados, não sendo associado nem à susceptibilidade nem à proteção contra o DM2. Analisando o alelo de menor frequência (MAF) para este polimorfismo, observou-se similaridade dos pacientes controle com as populações turca, iraniana e americana.

O estudo de Shimada et al não encontrou uma relação direta do polimorfismo com a susceptibilidade ao DM2. Assim como no estudo japonês, Fallah e colaboradores (2010) não encontraram associação entre o polimorfismo rs237025 e o DM2 em um estudo caso-controle com iranianos, destacando que o resultado pode estar relacionado ao tamanho reduzido da amostra. Em populações chinesas, Pu et al. (2012) associaram o polimorfismo ao DM2, relatando níveis mais elevados de hemoglobina glicada em portadores do alelo G (AG/GG) em comparação ao grupo controle. Diferentemente do estudo com a população chinesa, ambos os grupos estudados não apresentaram associação do polimorfismo com os níveis séricos de hemoglobina glicada ou outros biomarcadores. No presente estudo não foram encontrados associação de nenhum polimorfismo estudado com os biomarcadores dosados para ambos os grupos.

Lin et al. (2007) encontrou uma relação entre o polimorfismo e um risco aumentado de nefropatia diabética severa em pacientes com DM2 na população taiwanesa, associando o genótipo GG a níveis de albuminúria severamente mais aumentados e que pacientes com macroalbuminúria possuem maior frequência do alelo G. Sinha et al. (2016) observaram uma relação semelhante entre o genótipo GG e nefropatia diabética em pacientes indianos. Cerca de 20-30% de pacientes com DM2 desenvolvem nefropatia diabética. O defeito no metabolismo da glicose e hemodinâmica alterada desencadeiam processos de inflamação, infiltração de macrófagos e secreção excessiva de fatores inflamatórios detectáveis no tecido renal. A via do NFκB é a principal via do processo inflamatório renal e o SUMO é um importante regulador dessa via suprimindo o excesso de atividade (Sadeghi et al 2023). Apesar de cerca de 10% dos pacientes do grupo DM2 já possuírem algum problema renal, a associação do polimorfismo rs237025 não foi associada a essa condição.

Além da nefropatia, complicações como retinopatia diabética são comuns em pacientes diabéticos. Li et al. (2023) associaram o polimorfismo rs237025 com retinopatia diabética

proliferativa. Estudos prévios identificaram que o estresse oxidativo pode afetar a atividade da PTMs. Han et al demonstraram que a SUMOilação do I κ B e consequentemente ativação do NF κ B podem aumentar a atividade em células epiteliais do cristalino em quadros de hiperglicemia. Portanto, esse mecanismo desempenha um papel importante no desenvolvimento e progressão da retinopatia (Sadeghi et 2023). Apesar de 15% dos pacientes do estudo já apresentarem retinopatia diabética, os polimorfismos estudados não tiveram relação com essa complicação.

Embora Shimada et al. (2009) não tenham observado relação entre o polimorfismo e o DM2 na população japonesa, identificaram um risco maior de complicações cardiovasculares em pacientes diabéticos. Segundo os autores, a presença do alelo G mostrou maior prevalência de doença arterial coronariana em pacientes DM2. No presente estudo podemos observar que mais de 70% dos pacientes com diabetes possuem hipertensão arterial e parte dos pacientes apresentam algum tipo de complicação relacionada a doença, porém a presença do alelo G não foi associada a essas complicações. Alguns estudos revelam que o estresse do retículo endoplasmático (RE) desempenha um papel importante na progressão de cardiomiopatia diabética. Foi demonstrado em camundongos diabéticos que o processo de SUMOilação é intensificado no quadro crônico do DM, prejudicando a translocação de proteínas para o núcleo (Sadeghi et 2023).

Analisando a genotipagem do polimorfismo rs237027, rs7896 e rs6942381 podemos observar que não houve uma diferença entre a frequência genotípica e alélica entre os dois grupos analisados. Quando analisamos o alelo de menor frequência utilizando o IC95%, podemos observar que a população controle do estudo para o rs237027 e o rs7896 são semelhantes a africanos, americanos e europeus. O rs7896 também foi semelhante a asiáticos. Quando usamos o intervalo de confiança para comprar o rs6942381 podemos verificar que a população do estudo é semelhante aos asiáticos e europeus. Pesquisas como as de Kosoy e Concannon (2005) apontaram que os polimorfismos rs237025, rs237027 e rs6942381 estão em desequilíbrio de ligação, e Noso e colaboradores (2007) também encontraram um forte desequilíbrio de ligação entre os SNPs da região do gene *SUMO4*.

Embora diversas associações tenham sido relatadas em populações asiáticas, tanto para DM1 quanto para DM2, essa conexão não foi observada em populações não asiáticas (Zhang et al 2017). Não há estudos suficientes de associação dos polimorfismos do gene *SUMO4* e o DM2 em populações não asiáticas. De acordo com os resultados obtidos neste estudo podemos observar que a frequência do alelo G para ambos os grupos não teve diferença significativa. E ao contrário dos estudos citados anteriormente em relação ao DM2 e populações asiáticas, no presente estudo não foram encontradas diferenças significativas na genotipagem dos polimorfismos entre os grupos controle e o grupo com diabetes.

Uma das possíveis limitações que podem interferir no resultado obtido seria o tamanho amostral utilizado além da população ser apenas do estado do Paraná no Brasil, composta por cerca de 85% de euro-brasileiros. Segundo o último censo demográfico realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a população brasileira é composta por 45,3% de pardos, 43,5% de brancos, 10,2% de negros e 1% de indígenas e amarelos. Utilizar amostras de pacientes de outras regiões do país poderiam influenciar no resultado.

Conclusão

Podemos concluir que os polimorfismos rs6942381, rs237027, rs237025 e o rs7896 não estão associados ao risco de desenvolvimento de DM2 ou fator de proteção para essa população.

Também não houve associação dos polimorfismos com os níveis dos biomarcadores ou com as complicações desenvolvidas devido diabetes.

Referências bibliográficas

1. Federation International of Diabetes (IDF). (2021). *IDF Diabetes Atlas*. 10th ed. Brussels, Belgium: IDF.
2. ADA. Standards of Medical Care in Diabetes – 2024. *Diabetes Care*, 1, n. 47, p. 20-37.
3. Bommer C, Sagalova V, Heeseemann E, Mamme-Goehler J, Atun R, Bärnighausen T, Davies J, Vollmer S. Global Economic Burden of Diabetes in Adults: Projections From 2015 to 2030. *Diabetes Care*. 2018 May;41(5):963-970. doi: 10.2337/dc17-1962. Epub 2018 Feb 23. PMID: 29475843.
4. Piché ME, Tchemof A, Després JP. Obesity Phenotypes, Diabetes, and Cardiovascular Diseases. *Circ Res*. 2020 May 22;126(11):1477-1500. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.120.316101. Epub 2020 May 21. Erratum in: *Circ Res*. 2020 Jul 17;127(3):e107. doi: 10.1161/RES.0000000000000421. PMID: 32437302
5. Akhlaghipour I, Bina AR, Mogharrabi MR, Fanoodi A, Ebrahimian AR, Khojasteh Kaffash S, Babazadeh Baghan A, Khorashadizadeh ME, Taghehchian N, Moghbeli M. Single-nucleotide polymorphisms as important risk factors of diabetes among Middle East population. *Hum Genomics*. 2022 Apr 2;16(1):11. doi: 10.1186/s40246-022-00383-2. PMID: 35366956; PMCID: PMC8976361.
6. Geoghegan G, Simcox J, Seldin MM, Parnell TJ, Stubben C, Just S, Begaye L, Lusia AJ, Villanueva CJ. Targeted deletion of Tcf7l2 in adipocytes promotes adipocyte hypertrophy and impaired glucose metabolism. *Mol Metab*. 2019 Jun;24:44-63. doi: 10.1016/j.molmet.2019.03.003. Epub 2019 Mar 14. PMID: 30948248; PMCID: PMC6531814.
7. Krentz, N.A.J., Gloyn, A.L. Insights into pancreatic islet cell dysfunction from type 2 diabetes mellitus genetics. *Nat Rev Endocrinol* 16, 202–212 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41574-020-0325-0>
8. Eizirik DL, Pasquali L, Cnop M. Pancreatic β -cells in type 1 and type 2 diabetes mellitus: different pathways to failure. *Nat Rev Endocrinol*. 2020 Jul;16(7):349-362. doi: 10.1038/s41574-020-0355-7. Epub 2020 May 12. PMID: 32398822.
9. Li YY, Wang H, Yang XX, Geng HY, Gong G, Kim HJ, Zhou YH, Wu JJ. *Small Ubiquitin-Like Modifier 4 (SUMO4)* Gene M55V Polymorphism and Type 2 Diabetes Mellitus: A Meta-analysis Including 6,823 Subjects. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017 Nov 2;8:303. doi: 10.3389/fendo.2017.00303. PMID: 29163370; PMCID: PMC5673665.
10. Cheng X, Yang W, Lin W, Mei F. Paradoxes of Cellular SUMOylation Regulation: A Role of Biomolecular Condensates? *Pharmacol Rev*. 2023 Sep;75(5):979-1006. doi: 10.1124/pharmrev.122.000784. Epub 2023 May 3. PMID: 37137717; PMCID: PMC10441629.
11. Woods E, Marson I, Coci E, Spiller M, Kumar A, Brady A, Homfray T, Fisher R, Turnpenny P, Rankin J, Kanani F, Platzer K, Ververi A, Emmanouilidou E, Bourboun N, Giannakoulas G, Balasubramanian M. Expanding the phenotype of TAB2 variants and literature review. *Am J Med Genet A*. 2022 Nov;188(11):3331-3342. doi: 10.1002/ajmg.a.62949. Epub 2022 Aug 16. PMID: 35971781; PMCID: PMC9804770.
12. Yang G, Wang B, Sun D, Wang H, Chen M, Chen H, Zhu B. Genetic association study between TAB2 polymorphisms and noise-induced-hearing-loss in a Han Chinese population. *PLoS One*. 2021 May 11;16(5):e0251090. doi: 10.1371/journal.pone.0251090. PMID: 33974633; PMCID: PMC8112696.

13. Zaliunas BR, Gedvilaite-Vaicechauskiene G, Kriauciuniene L, Tamasauskas A, Liutkeviciene R. Associations of *TRAF2* (rs867186), *TAB2* (rs237025), *IKBKB* (rs13278372) Polymorphisms and *TRAF2*, *TAB2*, *IKBKB* Protein Levels with Clinical and Morphological Features of Pituitary Adenomas. *Cancers (Basel)*. 2024 Jul 10;16(14):2509. doi: 10.3390/cancers16142509. PMID: 39061149; PMCID: PMC11274473.
14. Hu A, Zou H, Chen B, Zhong J. Posttranslational modifications in diabetes: Mechanisms and functions. *Rev Endocr Metab Disord*. 2022 Oct;23(5):1011-1033. doi: 10.1007/s11154-022-09740-x. Epub 2022 Jun 13. PMID: 35697961.
15. Huang, CH., Yang, TT. & Lin, KI. Mechanisms and functions of SUMOylation in health and disease: a review focusing on immune cells. *J Biomed Sci* 31, 16 (2024). <https://doi.org/10.1186/s12929-024-01003-y>
16. Hajmrle C, Ferdaoussi M, Plummer G, Spigelman AF, Lai K, Manning Fox JE, MacDonald PE. SUMOylation protects against IL-1 β -induced apoptosis in INS-1 832/13 cells and human islets. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2014 Oct 15;307(8):E664-73. doi: 10.1152/ajpendo.00168.2014. Epub 2014 Aug 19. PMID: 25139051; PMCID: PMC4200309.
17. Lopes M S. Variabilidade nos genes *MMP-2* e *SUMO4* no diabetes mellitus tipo 1 de início na infância. [Dissertação de mestrado]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2020
18. Wild, N.; Kaiser, C.S.; Wunderlich, G.; Liebau, E.; Wrenger, C. Protein SUMOylation and Its Functional Role in Nuclear Receptor Control. *Receptors* 2024, 3, 408-424. <https://doi.org/10.3390/receptors3030020>
19. Guo D, Li M, Zhang Y, Yang P, Eckenrode S, Hopkins D, Zheng W, Purohit S, Podolsky RH, Muir A, Wang J, Dong Z, Brusko T, Atkinson M, Pozzilli P, Zeidler A, Raffel LJ, Jacob CO, Park Y, Serrano-Rios M, Larrad MT, Zhang Z, Garchon HJ, Bach JF, Rotter JI, She JX, Wang CY. A functional variant of SUMO4, a new I kappa B alpha modifier, is associated with type 1 diabetes. *Nat Genet*. 2004 Sep;36(9):1024. doi: 10.1038/ng1391. Epub 2004 Jul 11. PMID: 15247916.
20. Owerbach D, Piña L, Gabbay KH. A 212-kb region on chromosome 6q25 containing the *TAB2* gene is associated with susceptibility to type 1 diabetes. *Diabetes*. 2004 Jul;53(7):1890-3. doi: 10.2337/diabetes.53.7.1890. PMID: 15220215.
21. Hwang KW, Won TJ, Kim H, Chun HJ, Chun T, Park Y. Characterization of the regulatory roles of the SUMO. *Diabetes Metab Res Rev*. 2011 Nov;27(8):854-61. doi: 10.1002/dmrr.1261. Corrected and republished in: *Diabetes Metab Res Rev*. 2012 Feb;28(2):196-202. doi: 10.1002/dmrr.2273. PMID: 22069273.
22. Lin HY, Wang CL, Hsiao PJ, Lu YC, Chen SY, Lin KD, Hsin SC, Hsieh MC, Shin SJ. SUMO4 M55V variant is associated with diabetic nephropathy in type 2 diabetes. *Diabetes*. 2007 Apr;56(4):1177-80. doi: 10.2337/db06-1283. Epub 2007 Jan 17. PMID: 17229939.
23. Sozen S, Horozoglu C, Bireller ES, Karaali Z, Cakmakoglu B. Association of SUMO4 M55V and -94ins/del gene variants with type-2 diabetes. *In Vivo*. 2014 Sep-Oct;28(5):919-23. PMID: 25189908.
24. Sinha N, Yadav AK, Kumar V, Dutta P, Bhansali A, Jha V. SUMO4 163 G>A variation is associated with kidney disease in Indian subjects with type 2 diabetes. *Mol Biol Rep*. 2016 May;43(5):345-8. doi: 10.1007/s11033-016-3979-x. Epub 2016 Apr 7. PMID: 27055882.
25. Shimada T, Furukawa Y, Furuta H, Yasuda K, Matsuno S, Kusuyama A, Doi A, Nishi M, Sasaki H, Sanke T, Nanjo K. SUMO4 Met55Val polymorphism is associated with coronary heart disease in Japanese type 2 diabetes individuals. *Diabetes Res Clin Pract*.

- 2009 Jul;85(1):85-9. doi: 10.1016/j.diabres.2009.04.001. Epub 2009 May 1. PMID: 19410319.
26. Sun C, Wei H, Chen X, et al. ERBB3-rs2292239 as primary type 1 diabetes association locus among non-HLA genes in Chinese. *Meta Gene*. 2016 Sep;9:120-123. DOI: 10.1016/j.mgene.2016.05.003. PMID: 27331016; PMCID: PMC4908278.
 27. Noso S, Fujisawa T, Kawabata Y, Asano K, Hiromine Y, Fukai A, Ogihara T, Ikegami H. Association of small ubiquitin-like modifier 4 (SUMO4) variant, located in IDDM5 locus, with type 2 diabetes in the Japanese population. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Jun;92(6):2358-62. doi: 10.1210/jc.2007-0031.
 28. SBD. Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes (2024). DOI: 10.29327/5412848.2024-1, ISBN: 978-65-272-0704-7.
 29. Li H, Yang Z, Pu LM, et al. Adiponectin receptor 1 and small ubiquitin-like modifier 4 polymorphisms are associated with risk of coronary artery disease without diabetes. *Journal of Geriatric Cardiology : JGC*. 2016 Sep;13(9):776-782. DOI: 10.11909/j.issn.1671-5411.2016.09.001. PMID: 27899942; PMCID: PMC5122503.
 30. Li, H., Ning, M., Li, Q., Wang, T., Li, W., Xiao, J., ... Gong, B. (2023). The association of five polymorphisms with diabetic retinopathy in a Chinese population. *Ophthalmic Genetics*, 44(4), 346–351. <https://doi.org/10.1080/13816810.2023.2194494>
 31. Lahiri DK, Nurnberger II Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res*. 1991 Oct 11;19(19):5444. doi: 10.1093/nar/19.19.5444. PMID: 1681511; PMCID: PMC328920.
 32. Fallah S, Jafarzadeh M, Hedayati M. No association of the SUMO4 polymorphism M55V variant in type 2 diabetes in Iranian subjects. *Diabetes Res Clin Pract*. 2010 Nov;90(2):191-5. doi: 10.1016/j.diabres.2010.05.033. Epub 2010 Aug 21. PMID: 20728233.
 33. Pu LM, Nan N, Yang Z, Jin ZN. Association between SUMO4 polymorphisms and type 2 diabetes mellitus. *Yi Chuan = Hereditas*. 2012 Mar;34(3):315-325. DOI: 10.3724/sp.j.1005.2012.00315. PMID: 22425950.
 34. Sadeghi M, Dehnavi S, Shohan M, Jamialahmadi T, Sathyapalan T, Sahebkar A. Potential Role of SUMO and SUMOylation in the Pathogenesis of Diabetes Mellitus. *Curr Med Chem*. 2023;30(14):1623-1637. doi: 10.2174/0929867329666220817142848. PMID: 35980066.
 35. Kosoy R, Concannon P. Functional variants in SUMO4, TAB2, and NFkappaB and the risk of type 1 diabetes. *Genes Immun*. 2005 May;6(3):231-5. doi: 10.1038/sj.gene.6364174. PMID: 15729364.
 36. Zhang Q, Liu D, Zhao ZY, Sun Q, Ding LX, Wang YX. Association between the SUMO4 M55V Polymorphism and Susceptibility to Type 2 Diabetes Mellitus: A Meta-analysis. *Biomed Environ Sci*. 2017 Apr;30(4):288-295. doi: 10.3967/bes2017.038. PMID: 28494838.
 37. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Censo Demográfico 2022: características étnico-raciais da população brasileira. Rio de Janeiro: IBGE, 2023

5. Conclusões

Os polimorfismos rs37025 (A>G), rs237027 (C>T), rs6942381 (G>C) e rs7896 (G>C) não foram associados a susceptibilidade ao desenvolvimento de *Diabetes mellitus* tipo 2 ou fator de proteção para a doença na população euro brasileira estudada. Os polimorfismos também não foram associados aos biomarcadores dosados e ambos os grupos assim como também não foram associados às complicações desenvolvidas devido o diabetes.

6. Referências bibliográficas

- Abdul-Ghani, M. A., and R. A. DeFronzo. 2010. 'Pathogenesis of insulin resistance in skeletal muscle', *J Biomed Biotechnol*, 2010: 476279.
- ADA. 2024. '2. Diagnosis and Classification of Diabetes: Standards of Care in Diabetes-2024', *Diabetes Care*, 47: S20-S42.
- Ahlqvist, E., T. S. Ahluwalia, and L. Groop. 2010. 'Genetics of Type 2 Diabetes', *Clin Chem*, 57: 241-54.
- Ahn, J., H. Lee, S. W. Im, C. H. Jung, and T. Y. Ha. 2014. 'Allyl isothiocyanate ameliorates insulin resistance through the regulation of mitochondrial function', *J Nutr Biochem*, 25: 1026-34.
- Akash, M. S., K. Rehman, and S. Chen. 2013. 'Role of inflammatory mechanisms in pathogenesis of type 2 diabetes mellitus', *J Cell Biochem*, 114: 525-31.
- Akash, M. S., Q. Shen, K. Rehman, and S. Chen. 2012. 'Interleukin-1 receptor antagonist: a new therapy for type 2 diabetes mellitus', *J Pharm Sci*, 101: 1647-58.
- Ali, O. 2013. 'Genetics of type 2 diabetes', *World J Diabetes*, 4: 114-23.
- Arafat, H. A., A. K. Katakam, G. Chipitsyna, Q. Gong, A. R. Vancha, J. Gabbeta, and D. C. Dafoe. 2007. 'Osteopontin protects the islets and beta-cells from interleukin-1 beta-mediated cytotoxicity through negative feedback regulation of nitric oxide', *Endocrinology*, 148: 575-84.
- Arkan, M. C., A. L. Hevener, F. R. Greten, S. Maeda, Z. W. Li, J. M. Long, A. Wynshaw-Boris, G. Poli, J. Olefsky, and M. Karin. 2005. 'IKK-beta links inflammation to obesity-induced insulin resistance', *Nat Med*, 11: 191-8.
- Bennett, S. T., A. M. Lucassen, S. C. Gough, E. E. Powell, D. E. Undlien, L. E. Pritchard, M. E. Merriman, Y. Kawaguchi, M. J. Dronsfield, F. Pociot, and et al. 1995. 'Susceptibility to human type 1 diabetes at IDDM2 is determined by tandem repeat variation at the insulin gene minisatellite locus', *Nat Genet*, 9: 284-92.
- Bhatti JS, Sehrawat A, Mishra J, Sidhu IS, Navik U, Khullar N, Kumar S, Bhatti GK, Reddy PH. Oxidative stress in the pathophysiology of type 2 diabetes and related complications: Current therapeutics strategies and future perspectives. *Free Radic Biol Med*. 2022 May 1;184:114-134.
- Bohren, K. M., V. Nadkarni, J. H. Song, K. H. Gabbay, and D. Owerbach. 2004. 'A M55V polymorphism in a novel SUMO gene (SUMO-4) differentially activates heat shock transcription factors and is associated with susceptibility to type I diabetes mellitus', *J Biol Chem*, 279: 27233-8.

- Bommer, C., V. Sagalova, E. Heesemann, J. Manne-Goehler, R. Atun, T. Bärnighausen, J. Davies, and S. Vollmer. 2018. 'Global Economic Burden of Diabetes in Adults: Projections From 2015 to 2030', *Diabetes Care*, 41: 963-70.
- Böni-Schnetzler, M., S. Boller, S. Debray, K. Bouzakri, D. T. Meier, R. Prazak, J. Kerr-Conte, F. Pattou, J. A. Ehses, F. C. Schuit, and M. Y. Donath. 2009. 'Free fatty acids induce a proinflammatory response in islets via the abundantly expressed interleukin-1 receptor I', *Endocrinology*, 150: 5218-29.
- Böni-Schnetzler, M., J. Thorne, G. Parnaud, L. Marselli, J. A. Ehses, J. Kerr-Conte, F. Pattou, P. A. Halban, G. C. Weir, and M. Y. Donath. 2008. 'Increased interleukin (IL)-1beta messenger ribonucleic acid expression in beta -cells of individuals with type 2 diabetes and regulation of IL-1beta in human islets by glucose and autostimulation', *J Clin Endocrinol Metab*, 93: 4065-74.
- Bursomanno, Sara, Joanna F. McGouran, Benedikt M. Kessler, Ian D. Hickson, and Ying Liu. 2015. 'Regulation of SUMO2 Target Proteins by the Proteasome in Human Cells Exposed to Replication Stress', *J Proteome Res*, 14: 1687-99.
- Cai, D. 2013. 'Neuroinflammation and neurodegeneration in overnutrition-induced diseases', *Trends Endocrinol Metab*, 24: 40-7.
- Chawla, A., K. D. Nguyen, and Y. P. Goh. 2011. 'Macrophage-mediated inflammation in metabolic disease', *Nat Rev Immunol*, 11: 738-49.
- Chen, L., R. Chen, H. Wang, and F. Liang. 2015. 'Mechanisms Linking Inflammation to Insulin Resistance', *Int J Endocrinol*, 2015: 508409.
- Cole, J.B., Florez, J.C. 2020. 'Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications.' *Nat Rev Nephrol*, 16, 377-390
- Dai, L., C. Aye Thu, X. Y. Liu, J. Xi, and P. C. Cheung. 2012. 'TAK1, more than just innate immunity', *IUBMB Life*, 64: 825-34.
- Daniele, G., R. Guardado Mendoza, D. Winnier, T. V. Fiorentino, Z. Pengou, J. Cornell, F. Andreozzi, C. Jenkinson, E. Cersosimo, M. Federici, D. Tripathy, and F. Folli. 2014. 'The inflammatory status score including IL-6, TNF- α , osteopontin, fractalkine, MCP-1 and adiponectin underlies whole-body insulin resistance and hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus', *Acta Diabetol*, 51: 123-31.
- Desterro, J. M., M. S. Rodriguez, and R. T. Hay. 1998. 'SUMO-1 modification of I κ B inhibits NF- κ B activation', *Mol Cell*, 2: 233-9.
- Donath, M. Y., and S. E. Shoelson. 2011. 'Type 2 diabetes as an inflammatory disease', *Nat Rev Immunol*, 11: 98-107.
- Dou, L., T. Zhao, L. Wang, X. Huang, J. Jiao, D. Gao, H. Zhang, T. Shen, Y. Man, S. Wang, and J. Li. 2013. 'miR-200s contribute to interleukin-6 (IL-6)-induced insulin resistance in hepatocytes', *J Biol Chem*, 288: 22596-606.
- Ehses, J. A., H. Ellingsgaard, M. Böni-Schnetzler, and M. Y. Donath. 2009. 'Pancreatic islet inflammation in type 2 diabetes: from alpha and beta cell compensation to dysfunction', *Arch Physiol Biochem*, 115: 240-7.
- Eldor, R., A. Yeffet, K. Baum, V. Doviner, D. Amar, Y. Ben-Neriah, G. Christofori, A. Peled, J. C. Carel, C. Boitard, T. Klein, P. Serup, D. L. Eizirik, and D. Melloul. 2006. 'Conditional and specific NF- κ B blockade protects pancreatic beta cells from diabetogenic agents', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103: 5072-7.
- Fages, C., R. Nolo, H. J. Huttunen, E. Eskelinen, and H. Rauvala. 2000. 'Regulation of cell migration by amphoterin', *J Cell Sci*, 113 (Pt 4): 611-20.
- Fernández-Veledo, S., R. Vila-Bedmar, I. Nieto-Vazquez, and M. Lorenzo. 2009. 'c-Jun N-terminal kinase 1/2 activation by tumor necrosis factor- α induces insulin resistance in human visceral but not subcutaneous adipocytes: reversal by liver X receptor agonists', *J Clin Endocrinol Metab*, 94: 3583-93.

- Festa, A., R. D'Agostino, Jr., G. Howard, L. Mykkänen, R. P. Tracy, and S. M. Haffner. 2000. 'Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS)', *Circulation*, 102: 42-7.
- Fève, B., and J. P. Bastard. 2009. 'The role of interleukins in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus', *Nat Rev Endocrinol*, 5: 305-11.
- Gaggini, M., M. Morelli, E. Buzzigoli, R. A. DeFronzo, E. Bugianesi, and A. Gastaldelli. 2013. 'Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and its connection with insulin resistance, dyslipidemia, atherosclerosis and coronary heart disease', *Nutrients*, 5: 1544-60.
- Ganesan, K., K. M. Ramkumar, and B. Xu. 2020. 'Vitexin restores pancreatic β -cell function and insulin signaling through Nrf2 and NF- κ B signaling pathways', *Eur J Pharmacol*, 888: 173606.
- Geiss, L. S., J. Wang, Y. J. Cheng, T. J. Thompson, L. Barker, Y. Li, A. L. Albright, and E. W. Gregg. 2014. 'Prevalence and incidence trends for diagnosed diabetes among adults aged 20 to 79 years, United States, 1980-2012', *JAMA*, 312: 1218-26.
- Goldfine, A. B., V. Fonseca, and S. E. Shoelson. 2011. 'Therapeutic approaches to target inflammation in type 2 diabetes', *Clin Chem*, 57: 162-7.
- Guo, C., and J. M. Henley. 2014. 'Wrestling with stress: roles of protein SUMOylation and deSUMOylation in cell stress response', *IUBMB Life*, 66: 71-7.
- Guo, D., M. Li, Y. Zhang, P. Yang, S. Eckenrode, D. Hopkins, W. Zheng, S. Purohit, R. H. Podolsky, A. Muir, J. Wang, Z. Dong, T. Brusko, M. Atkinson, P. Pozzilli, A. Zeidler, L. J. Raffel, C. O. Jacob, Y. Park, M. Serrano-Rios, M. T. Larrad, Z. Zhang, H. J. Garchon, J. F. Bach, J. I. Rotter, J. X. She, and C. Y. Wang. 2004. 'A functional variant of SUMO4, a new I kappa B alpha modifier, is associated with type 1 diabetes', *Nat Genet*, 36: 837-41.
- Gross, J.L., Silveiro, S., Camargo, J., Reichlt, A., Azevedo, M. 2002. 'Diabetes Melito: Diagnóstico, Classificação e Avaliação do Controle Glicêmico.' *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 1, 16-26.
- Hayden, M. S., and S. Ghosh. 2014. 'Regulation of NF- κ B by TNF family cytokines', *Semin Immunol*, 26: 253-66.
- He, Huijun, Yonggan Sun, Shanshan Zhang, Hao Zhang, Wenwen Su, Zheyu Guo, Yanli Zhang, Jiajia Wen, Xiajialong Li, Jielun Hu, and Shaoping Nie. 2022. 'Arabinogalactan, Bifidobacterium longum, and Faecalibacterium prausnitzii improve insulin resistance in high-fat diet-induced C57BL/6J mice', *eFood*, 3: e1.
- Hotamisligil, G. S. 2000. 'Molecular mechanisms of insulin resistance and the role of the adipocyte', *Int J Obes Relat Metab Disord*, 24 Suppl 4: S23-7.
- Hotamisligil, Gökhan S. 2017. 'Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders', *Nature*, 542: 177-85.
- Hu, Ang, Haohong Zou, Bin Chen, and Jianing Zhong. 2022. 'Posttranslational modifications in diabetes: Mechanisms and functions', *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 23: 1011-33.
- Huang, S., J. M. Rutkowski, R. G. Snodgrass, K. D. Ono-Moore, D. A. Schneider, J. W. Newman, S. H. Adams, and D. H. Hwang. 2012. 'Saturated fatty acids activate TLR-mediated proinflammatory signaling pathways', *J Lipid Res*, 53: 2002-13.
- IDF. 2019. 'IDF Diabetes Atlas'.

- . 2021. 'IDF DIABETES ATLAS', International Diabetes Federation, Accessed 05/01/2021.
- Ji, ZZ, J Dai, and YC Xu. 2010. 'Association between small ubiquitin-like modifier 4 M55V polymorphism with type 2 diabetes and related factors', *Chin J Diabetes Mellitus*, 2.
- Kahn, S. E., M. E. Cooper, and S. Del Prato. 2014. 'Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future', *Lancet*, 383: 1068-83.
- Kahn, S. E., R. L. Hull, and K. M. Utzschneider. 2006. 'Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes', *Nature*, 444: 840-6.
- Kalea, A. Z., A. M. Schmidt, and B. I. Hudson. 2009. 'RAGE: a novel biological and genetic marker for vascular disease', *Clin Sci (Lond)*, 116: 621-37.
- Kanayama, A., R. B. Seth, L. Sun, C. K. Ea, M. Hong, A. Shaito, Y. H. Chiu, L. Deng, and Z. J. Chen. 2004. 'TAB2 and TAB3 activate the NF-kappaB pathway through binding to polyubiquitin chains', *Mol Cell*, 15: 535-48.
- Karaca, Ü, M. T. Schram, A. J. Houben, D. M. Muris, and C. D. Stehouwer. 2014. 'Microvascular dysfunction as a link between obesity, insulin resistance and hypertension', *Diabetes Res Clin Pract*, 103: 382-7.
- Kim, T. H., S. E. Choi, E. S. Ha, J. G. Jung, S. J. Han, H. J. Kim, D. J. Kim, Y. Kang, and K. W. Lee. 2013. 'IL-6 induction of TLR-4 gene expression via STAT3 has an effect on insulin resistance in human skeletal muscle', *Acta Diabetol*, 50: 189-200.
- Kislinger, T., C. Fu, B. Huber, W. Qu, A. Taguchi, S. Du Yan, M. Hofmann, S. F. Yan, M. Pischetsrieder, D. Stern, and A. M. Schmidt. 1999. 'N(epsilon)-(carboxymethyl)lysine adducts of proteins are ligands for receptor for advanced glycation end products that activate cell signaling pathways and modulate gene expression', *J Biol Chem*, 274: 31740-9.
- Kleinberger, J. W., and T. I. Pollin. 2015. 'Personalized medicine in diabetes mellitus: current opportunities and future prospects', *Ann N Y Acad Sci*, 1346: 45-56.
- Kolarić V, Svirčević V, Bijuk R, Zupančić V. CHRONIC COMPLICATIONS OF DIABETES AND QUALITY OF LIFE. *Acta Clin Croat*. 2022 Nov;61(3):520-527.
- Könner, A. C., and J. C. Brüning. 2011. 'Toll-like receptors: linking inflammation to metabolism', *Trends Endocrinol Metab*, 22: 16-23.
- Kosoy, R., and P. Concannon. 2005. 'Functional variants in SUMO4, TAB2, and NFkappaB and the risk of type 1 diabetes', *Genes Immun*, 6: 231-5.
- Koul, D., Y. Yao, J. L. Abbruzzese, W. K. Yung, and S. A. Reddy. 2001. 'Tumor suppressor MMAC/PTEN inhibits cytokine-induced NFkappaB activation without interfering with the IkappaB degradation pathway', *J Biol Chem*, 276: 11402-8.
- Lander, H. M., J. M. Tauras, J. S. Ogiste, O. Hori, R. A. Moss, and A. M. Schmidt. 1997. 'Activation of the receptor for advanced glycation end products triggers a p21(ras)-dependent mitogen-activated protein kinase pathway regulated by oxidant stress', *J Biol Chem*, 272: 17810-4.
- Leclerc, E., G. Fritz, M. Weibel, C. W. Heizmann, and A. Galichet. 2007. 'S100B and S100A6 differentially modulate cell survival by interacting with distinct RAGE (receptor for advanced glycation end products) immunoglobulin domains', *J Biol Chem*, 282: 31317-31.
- Lee, B. C., and J. Lee. 2014. 'Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance', *Biochim Biophys Acta*, 1842: 446-62.

- Li, Y. Y., H. Wang, X. X. Yang, H. Y. Geng, G. Gong, H. J. Kim, Y. H. Zhou, and J. J. Wu. 2017. 'Small Ubiquitin-Like Modifier 4 (SUMO4) Gene M55V Polymorphism and Type 2 Diabetes Mellitus: A Meta-analysis Including 6,823 Subjects', *Front Endocrinol (Lausanne)*, 8: 303.
- Lin, H. Y., C. L. Wang, P. J. Hsiao, Y. C. Lu, S. Y. Chen, K. D. Lin, S. C. Hsin, M. C. Hsieh, and S. J. Shin. 2007. 'SUMO4 M55V variant is associated with diabetic nephropathy in type 2 diabetes', *Diabetes*, 56: 1177-80.
- Locke, Adam E., Bratati Kahali, Sonja I. Berndt, Anne E. Justice, Tune H. Pers, Felix R. Day, Corey Powell, Sailaja Vedantam, Martin L. Buchkovich, Jian Yang, Damien C. Croteau-Chonka, Tonu Esko, Tove Fall, Teresa Ferreira, Stefan Gustafsson, Zoltán Kutalik, Jian'an Luan, Reedik Mägi, Joshua C. Randall, Thomas W. Winkler, Andrew R. Wood, Tsegaselassie Workalemahu, Jessica D. Faul, Jennifer A. Smith, Jing Hua Zhao, Wei Zhao, Jin Chen, Rudolf Fehrmann, Åsa K. Hedman, Juha Karjalainen, Ellen M. Schmidt, Devin Absher, Najaf Amin, Denise Anderson, Marian Beekman, Jennifer L. Bolton, Jennifer L. Bragg-Gresham, Steven Buyske, Ayse Demirkan, Guohong Deng, Georg B. Ehret, Bjarke Feenstra, Mary F. Feitosa, Krista Fischer, Anuj Goel, Jian Gong, Anne U. Jackson, Stavroula Kanoni, Marcus E. Kleber, Kati Kristiansson, Unhee Lim, Vaneet Lotay, Massimo Mangino, Irene Mateo Leach, Carolina Medina-Gomez, Sarah E. Medland, Michael A. Nalls, Cameron D. Palmer, Dorota Pasko, Sonali Pechlivanis, Marjolein J. Peters, Inga Prokopenko, Dmitry Shungin, Alena Stančáková, Rona J. Strawbridge, Yun Ju Sung, Toshiko Tanaka, Alexander Teumer, Stella Trompet, Sander W. van der Laan, Jessica van Setten, Jana V. Van Vliet-Ostaptchouk, Zhaoming Wang, Loïc Yengo, Weihua Zhang, Aaron Isaacs, Eva Albrecht, Johan Ärnlöv, Gillian M. Arscott, Antony P. Attwood, Stefania Bandinelli, Amy Barrett, Isabelita N. Bas, Claire Bellis, Amanda J. Bennett, Christian Berne, Roza Blagieva, Matthias Blüher, Stefan Böhringer, Lori L. Bonnycastle, Yvonne Böttcher, Heather A. Boyd, Marcel Bruinenberg, Ida H. Caspersen, Yii-Der Ida Chen, Robert Clarke, E. Warwick Daw, Anton J. M. de Craen, Graciela Delgado, Maria Dimitriou, Alex S. F. Doney, Niina Eklund, Karol Estrada, Elodie Eury, Lasse Folkersen, Ross M. Fraser, Melissa E. Garcia, Frank Geller, Vilmantas Giedraitis, Bruna Gigante, Alan S. Go, Alain Golay, Alison H. Goodall, Scott D. Gordon, Mathias Gorski, Hans-Jürgen Grabe, Harald Grallert, Tanja B. Grammer, Jürgen Gräßler, Henrik Grönberg, Christopher J. Groves, Gaëlle Gusto, Jeffrey Haessler, Per Hall, Toomas Haller, Goran Hallmans, Catharina A. Hartman, Maija Hassinen, Caroline Hayward, Nancy L. Heard-Costa, Quinta Helmer, Christian Hengstenberg, Oddgeir Holmen, Jouke-Jan Hottenga, Alan L. James, Janina M. Jeff, Åsa Johansson, Jennifer Jolley, Thorhildur Juliusdottir, Leena Kinnunen, Wolfgang Koenig, Markku Koskenvuo, Wolfgang Kratzer, Jaana Laitinen, Claudia Lamina, Karin Leander, Nanette R. Lee, Peter Lichtner, Lars Lind, Jaana Lindström, Ken Sin Lo, Stéphane Lobbens, Roberto Lorbeer, Yingchang Lu, François Mach, Patrik K. E. Magnusson, Anubha Mahajan, Wendy L. McArdle, Stela McLachlan, Cristina Menni, Sigrun Merger, Evelin Mihailov, Lili Milani, Alireza Moayyeri, Keri L. Monda, Mario A. Morken, Antonella Mulas, Gabriele Müller, Martina Müller-Nurasyid, Arthur W. Musk, Ramaiah Nagaraja, Markus M. Nöthen, Ilja M. Nolte, Stefan Pilz, Nigel W. Rayner, Frida Renstrom, Rainer Rettig, Janina S. Ried, Stephan Ripke, Neil R. Robertson, Lynda M. Rose, Serena Sanna, Hubert Scharnagl, Salome Scholtens, Fredrick R. Schumacher, William R. Scott, Thomas Seufferlein, Jianxin Shi, Albert Vernon Smith, Joanna Smolonska, Alice

- V. Stanton, Valgerdur Steinthorsdottir, Kathleen Stirrups, Heather M. Stringham, Johan Sundström, Morris A. Swertz, Amy J. Swift, Ann-Christine Syvänen, Sian-Tsung Tan, Bamidele O. Tayo, Barbara Thorand, Gudmar Thorleifsson, Jonathan P. Tyrer, Hae-Won Uh, Liesbeth Vandenput, Frank C. Verhulst, Sita H. Vermeulen, Niek Verweij, Judith M. Vonk, Lindsay L. Waite, Helen R. Warren, Dawn Waterworth, Michael N. Weedon, Lynne R. Wilkens, Christina Willenborg, Tom Wilsgaard, Mary K. Wojczynski, Andrew Wong, Alan F. Wright, Qunyuan Zhang, Eoin P. Brennan, Murim Choi, Zari Dastani, Alexander W. Drong, Per Eriksson, Anders Franco-Cereceda, Jesper R. Gådin, Ali G. Gharavi, Michael E. Goddard, Robert E. Handsaker, Jinyan Huang, Fredrik Karpe, Sekar Kathiresan, Sarah Keildson, Krzysztof Kiryluk, Michiaki Kubo, Jong-Young Lee, Liming Liang, Richard P. Lifton, Baoshan Ma, Steven A. McCarroll, Amy J. McKnight, Josine L. Min, Miriam F. Moffatt, Grant W. Montgomery, Joanne M. Murabito, George Nicholson, Dale R. Nyholt, Yukinori Okada, John R. B. Perry, Rajkumar Dorajoo, Eva Reinmaa, Rany M. Salem, Niina Sandholm, Robert A. Scott, Lisette Stolk, Atsushi Takahashi, Toshihiro Tanaka, Ferdinand M. van't Hooft, Anna A. E. Vinkhuyzen, Harm-Jan Westra, Wei Zheng, Krina T. Zondervan, Andrew C. Heath, Dominique Arveiler, Stephan J. L. Bakker, John Beilby, Richard N. Bergman, John Blangero, Pascal Bovet, Harry Campbell, Mark J. Caulfield, Giancarlo Cesana, Aravinda Chakravarti, Daniel I. Chasman, Peter S. Chines, Francis S. Collins, Dana C. Crawford, L. Adrienne Cupples, Daniele Cusi, John Danesh, Ulf de Faire, Hester M. den Ruijter, Anna F. Dominiczak, Raimund Erbel, Jeanette Erdmann, Study The LifeLines Cohort, ADIPOGen Consortium The, Agen- B. M. I. Working Group The, CARDIOGRAMplusC D. Consortium The, CKDGen Consortium The, Glgc The, Icbp The, Magic Investigators The, Ther Consortium The Mu, MIGen Consortium The, Page Consortium The, Consortium The ReproGen, Genie Consortium The, and Consortium The International Endogene. 2015. 'Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology', *Nature*, 518: 197-206.
- Lopes, M. S. 'Variabilidade nos genes MMP-2 e SUMO4 no diabetes mellitus tipo 1 de início na infância. [Dissertação de mestrado]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. 2020
- Lukic, L., N. M. Lalic, N. Rajkovic, A. Jotic, K. Lalic, T. Milicic, J. P. Seferovic, M. Macesic, and J. S. Gajovic. 2014. 'Hypertension in obese type 2 diabetes patients is associated with increases in insulin resistance and IL-6 cytokine levels: potential targets for an efficient preventive intervention', *Int J Environ Res Public Health*, 11: 3586-98.
- Madrid, L. V., M. W. Mayo, J. Y. Reuther, and A. S. Baldwin, Jr. 2001. 'Akt stimulates the transactivation potential of the RelA/p65 Subunit of NF-kappa B through utilization of the I kappa B kinase and activation of the mitogen-activated protein kinase p38', *J Biol Chem*, 276: 18934-40.
- Madrid, L. V., C. Y. Wang, D. C. Guttridge, A. J. Schottelius, A. S. Baldwin, Jr., and M. W. Mayo. 2000. 'Akt suppresses apoptosis by stimulating the transactivation potential of the RelA/p65 subunit of NF-kappaB', *Mol Cell Biol*, 20: 1626-38.
- Maedler, K., J. Oberholzer, P. Bucher, G. A. Spinas, and M. Y. Donath. 2003. 'Monounsaturated fatty acids prevent the deleterious effects of palmitate and high glucose on human pancreatic beta-cell turnover and function', *Diabetes*, 52: 726-33.

- Meigs, J B, L A Cupples, and P W Wilson. 2000. 'Parental transmission of type 2 diabetes: the Framingham Offspring Study', *Diabetes*, 49: 2201-07.
- Mohanraj, L., H. S. Kim, W. Li, Q. Cai, K. E. Kim, H. J. Shin, Y. J. Lee, W. J. Lee, J. H. Kim, and Y. Oh. 2013. 'IGFBP-3 inhibits cytokine-induced insulin resistance and early manifestations of atherosclerosis', *PLoS One*, 8: e55084.
- Mulder, H. 2017. 'Transcribing β -cell mitochondria in health and disease', *Mol Metab*, 6: 1040-51.
- Muris, D. M., A. J. Houben, M. T. Schram, and C. D. Stehouwer. 2013. 'Microvascular dysfunction: an emerging pathway in the pathogenesis of obesity-related insulin resistance', *Rev Endocr Metab Disord*, 14: 29-38.
- Muthyalaiyah, Y. S., B. Jonnalagadda, C. M. John, and S. Arockiasamy. 2021. 'Impact of Advanced Glycation End products (AGEs) and its receptor (RAGE) on cancer metabolic signaling pathways and its progression', *Glycoconj J*, 38: 717-34.
- Muzy, J., M. R. Campos, I. Emmerick, R. S. D. Silva, and J. M. A. Schramm. 2021. '[Prevalence of diabetes mellitus and its complications and characterization of healthcare gaps based on triangulation of studies]', *Cad Saude Publica*, 37: e00076120.
- Noso, S., T. Fujisawa, Y. Kawabata, K. Asano, Y. Hiromine, A. Fukai, T. Ogihara, and H. Ikegami. 2007. 'Association of small ubiquitin-like modifier 4 (SUMO4) variant, located in IDDM5 locus, with type 2 diabetes in the Japanese population', *J Clin Endocrinol Metab*, 92: 2358-62.
- Osborn, O., and J. M. Olefsky. 2012. 'The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease', *Nat Med*, 18: 363-74.
- Owerbach, D., L. Pinã, and K. H. Gabbay. 2004. 'A 212-kb Region on Chromosome 6q25 Containing the TAB2 Gene Is Associated With Susceptibility to Type 1 Diabetes', *Diabetes*, 53.
- Pal, D., S. Dasgupta, R. Kundu, S. Maitra, G. Das, S. Mukhopadhyay, S. Ray, S. S. Majumdar, and S. Bhattacharya. 2012. 'Fetuin-A acts as an endogenous ligand of TLR4 to promote lipid-induced insulin resistance', *Nat Med*, 18: 1279-85.
- Papachristoforou, E., V. Lambadiari, E. Maratou, and K. Makrilakis. 2020. 'Association of Glycemic Indices (Hyperglycemia, Glucose Variability, and Hypoglycemia) with Oxidative Stress and Diabetic Complications', *J Diabetes Res*, 2020: 7489795.
- Pierce, M., H. Keen, and C. Bradley. 1995. 'Risk of diabetes in offspring of parents with non-insulin-dependent diabetes', *Diabet Med*, 12: 6-13.
- Poulsen, P., K. O. Kyvik, A. Vaag, and H. Beck-Nielsen. 1999. 'Heritability of type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and abnormal glucose tolerance--a population-based twin study', *Diabetologia*, 42: 139-45.
- Pradhan, A. D., J. E. Manson, N. Rifai, J. E. Buring, and P. M. Ridker. 2001. 'C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus', *JAMA*, 286: 327-34.
- Prokopenko, I., M. I. McCarthy, and C. M. Lindgren. 2008. 'Type 2 diabetes: new genes, new understanding', *Trends Genet*, 24: 613-21.
- Qu, H., B. Bharaj, X. Q. Liu, J. A. Curtis, L. A. Newhook, A. D. Paterson, T. J. Hudson, and C. Polychronakos. 2005. 'Assessing the validity of the association between the SUMO4 M55V variant and risk of type 1 diabetes', *Nat Genet*, 37: 111-2; author reply 12-3.
- Ramadori, P., D. Kroy, and K. L. Streetz. 2015. 'Immunoregulation by lipids during the development of non-alcoholic steatohepatitis', *Hepatobiliary Surg Nutr*, 4: 11-23.

- Rizza, R. A. 2010. 'Pathogenesis of fasting and postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes: implications for therapy', *Diabetes*, 59: 2697-707.
- Rosenvinge, A, R Krogh-Madsen, B Baslund, and BK Pedersen. 2007. 'Insulin resistance in patients with rheumatoid arthritis: effect of anti-TNF α therapy', *Scand J Rheumatol*, 36: 91-96.
- Rudofsky, G., Jr., A. Schlotterer, P. M. Humpert, J. Tafel, M. Morcos, P. P. Nawroth, A. Bierhaus, and A. Hamann. 2008. 'A M55V polymorphism in the SUMO4 gene is associated with a reduced prevalence of diabetic retinopathy in patients with Type 1 diabetes', *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 116: 14-7.
- Sabio, G., M. Das, A. Mora, Z. Zhang, J. Y. Jun, H. J. Ko, T. Barrett, J. K. Kim, and R. J. Davis. 2008. 'A stress signaling pathway in adipose tissue regulates hepatic insulin resistance', *Science*, 322: 1539-43.
- Sacks, D. B., M. Arnold, G. L. Bakris, D. E. Bruns, A. R. Horvath, Å Lernmark, B. E. Metzger, D. M. Nathan, and M. S. Kirkman. 2023. 'Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus', *Clin Chem*, 69: 808-68.
- SBD. 2019-2020. 'DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES'.
- Schwartz, S. S., S. Epstein, B. E. Corkey, S. F. Grant, J. R. Gavin, 3rd, and R. B. Aguilar. 2016. 'The Time Is Right for a New Classification System for Diabetes: Rationale and Implications of the β -Cell-Centric Classification Schema', *Diabetes Care*, 39: 179-86.
- Serrano-Marco, L., E. Barroso, I. El Kochairi, X. Palomer, L. Michalik, W. Wahli, and M. Vázquez-Carrera. 2012. 'The peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) β/δ agonist GW501516 inhibits IL-6-induced signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) activation and insulin resistance in human liver cells', *Diabetologia*, 55: 743-51.
- Sharma, M., N. K. Vikram, A. Misra, S. Bhatt, M. Tarique, H. A. Parray, R. M. Pandey, and K. Luthra. 2013. 'Assessment of 11- β hydroxysteroid dehydrogenase (11- β HSD1) 4478T>G and tumor necrosis factor- α (TNF- α)-308G>A polymorphisms with obesity and insulin resistance in Asian Indians in North India', *Mol Biol Rep*, 40: 6261-70.
- Shi, H., M. V. Kokoeva, K. Inouye, I. Tzameli, H. Yin, and J. S. Flier. 2006. 'TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance', *J Clin Invest*, 116: 3015-25.
- Shoelson, S. E., J. Lee, and A. B. Goldfine. 2006. 'Inflammation and insulin resistance', *J Clin Invest*, 116: 1793-801.
- Shungin, Dmitry, Thomas W. Winkler, Damien C. Croteau-Chonka, Teresa Ferreira, Adam E. Locke, Reedik Mägi, Rona J. Strawbridge, Tune H. Pers, Krista Fischer, Anne E. Justice, Tsegaselassie Workalemahu, Joseph M. W. Wu, Martin L. Buchkovich, Nancy L. Heard-Costa, Tamara S. Roman, Alexander W. Drong, Ci Song, Stefan Gustafsson, Felix R. Day, Tonu Esko, Tove Fall, Zoltán Kutalik, Jian'an Luan, Joshua C. Randall, André Scherag, Sailaja Vedantam, Andrew R. Wood, Jin Chen, Rudolf Fehrmann, Juha Karjalainen, Bratati Kahali, Ching-Ti Liu, Ellen M. Schmidt, Devin Absher, Najaf Amin, Denise Anderson, Marian Beekman, Jennifer L. Bragg-Gresham, Steven Buyske, Ayse Demirkan, Georg B. Ehret, Mary F. Feitosa, Anuj Goel, Anne U. Jackson, Toby Johnson, Marcus E. Kleber, Kati Kristiansson, Massimo Mangino, Irene Mateo Leach, Carolina Medina-Gomez, Cameron D. Palmer, Dorota Pasko, Sonali Pechlivanis, Marjolein J. Peters, Inga Prokopenko, Alena Stančáková, Yun Ju Sung, Toshiko Tanaka, Alexander Teumer, Jana V. Van Vliet-Ostaptchouk, Loïc

Yengo, Weihua Zhang, Eva Albrecht, Johan Ärnlov, Gillian M. Arscott, Stefania Bandinelli, Amy Barrett, Claire Bellis, Amanda J. Bennett, Christian Berne, Matthias Blüher, Stefan Böhringer, Fabrice Bonnet, Yvonne Böttcher, Marcel Bruinenberg, Delia B. Carba, Ida H. Caspersen, Robert Clarke, E. Warwick Daw, Joris Deelen, Ewa Deelman, Graciela Delgado, Alex S. F. Doney, Niina Eklund, Michael R. Erdos, Karol Estrada, Elodie Eury, Nele Friedrich, Melissa E. Garcia, Vilmantas Giedraitis, Bruna Gigante, Alan S. Go, Alain Golay, Harald Grallert, Tanja B. Grammer, Jürgen Gräßler, Jagvir Grewal, Christopher J. Groves, Toomas Haller, Goran Hallmans, Catharina A. Hartman, Maija Hassinen, Caroline Hayward, Kauko Heikkilä, Karl-Heinz Herzig, Quinta Helmer, Hans L. Hillege, Oddgeir Holmen, Steven C. Hunt, Aaron Isaacs, Till Ittermann, Alan L. James, Ingegerd Johansson, Thorhildur Juliusdottir, Ioanna-Panagiota Kalafati, Leena Kinnunen, Wolfgang Koenig, Ishminder K. Kooner, Wolfgang Kratzer, Claudia Lamina, Karin Leander, Nanette R. Lee, Peter Lichtner, Lars Lind, Jaana Lindström, Stéphane Lobbens, Mattias Lorentzon, François Mach, Patrik K. E. Magnusson, Anubha Mahajan, Wendy L. McArdle, Cristina Menni, Sigrun Merger, Evelin Mihailov, Lili Milani, Rebecca Mills, Alireza Moayyeri, Keri L. Monda, Simon P. Mooijaart, Thomas W. Mühleisen, Antonella Mulas, Gabriele Müller, Martina Müller-Nurasyid, Ramaiah Nagaraja, Michael A. Nalls, Narisu Narisu, Nicola Glorioso, Ilja M. Nolte, Matthias Olden, Nigel W. Rayner, Frida Renstrom, Janina S. Ried, Neil R. Robertson, Lynda M. Rose, Serena Sanna, Hubert Scharnagl, Salome Scholtens, Bengt Sennblad, Thomas Seufferlein, Colleen M. Sitlani, Albert Vernon Smith, Kathleen Stirrups, Heather M. Stringham, Johan Sundström, Morris A. Swertz, Amy J. Swift, Ann-Christine Syvänen, Bamidele O. Tayo, Barbara Thorand, Gudmar Thorleifsson, Andreas Tomaschitz, Chiara Troffa, Floor V. A. van Oort, Niek Verweij, Judith M. Vonk, Lindsay L. Waite, Roman Wennauer, Tom Wilsgaard, Mary K. Wojczynski, Andrew Wong, Qunyuan Zhang, Jing Hua Zhao, Eoin P. Brennan, Murim Choi, Per Eriksson, Lasse Folkersen, Anders Franco-Cereceda, Ali G. Gharavi, Åsa K. Hedman, Marie-France Hivert, Jinyan Huang, Stavroula Kanoni, Fredrik Karpe, Sarah Keildson, Krzysztof Kiryluk, Liming Liang, Richard P. Lifton, Baoshan Ma, Amy J. McKnight, Ruth McPherson, Andres Metspalu, Josine L. Min, Miriam F. Moffatt, Grant W. Montgomery, Joanne M. Murabito, George Nicholson, Dale R. Nyholt, Christian Olsson, John R. B. Perry, Eva Reinmaa, Rany M. Salem, Niina Sandholm, Eric E. Schadt, Robert A. Scott, Lisette Stolk, Edgar E. Vallejo, Harm-Jan Westra, Krina T. Zondervan, Philippe Amouyel, Dominique Arveiler, Stephan J. L. Bakker, John Beilby, Richard N. Bergman, John Blangero, Morris J. Brown, Michel Burnier, Harry Campbell, Aravinda Chakravarti, Peter S. Chines, Simone Claudi-Boehm, Francis S. Collins, Dana C. Crawford, John Danesh, Ulf de Faire, Eco J. C. de Geus, Marcus Dörr, Raimund Erbel, Johan G. Eriksson, Martin Farrall, Ele Ferrannini, Jean Ferrières, Nita G. Forouhi, Terrence Forrester, Oscar H. Franco, Ron T. Gansevoort, Christian Gieger, Vilmundur Gudnason, Christopher A. Haiman, Tamara B. Harris, Andrew T. Hattersley, Markku Heliövaara, Andrew A. Hicks, Aroon D. Hingorani, Wolfgang Hoffmann, Albert Hofman, Georg Homuth, Steve E. Humphries, Elina Hyppönen, Thomas Illig, Marjo-Riitta Jarvelin, Berit Johansen, Pekka Jousilahti, Antti M. Jula, Jaakko Kaprio, Frank Kee, Sirkka M. Keinanen-Kiukaanniemi, Jaspal S. Kooner, Charles Kooperberg, Peter Kovacs, Aldi T. Kraja, Meena Kumari, Kari Kuulasmaa, Johanna Kuusisto, Timo A. Lakka, Claudia Langenberg, Loic Le

- Marchand, Terho Lehtimäki, Valeriya Lyssenko, Satu Männistö, André Marette, Tara C. Matise, Colin A. McKenzie, Barbara McKnight, Arthur W. Musk, Stefan Möhlenkamp, Andrew D. Morris, Mari Nelis, ADIPOGen Consortium The, CARDIOGRAMplusC4D Consortium The, CKDGen Consortium The, Gefos Consortium The, Genie Consortium The, Glogc The, Icbp The, Consortium The International Endogene, Study The LifeLines Cohort, Magic Investigators The, Ther Consortium The Mu, Page Consortium The, and Consortium The ReproGen. 2015. 'New genetic loci link adipose and insulin biology to body fat distribution', *Nature*, 518: 187-96.
- Sizemore, N., S. Leung, and G. R. Stark. 1999. 'Activation of phosphatidylinositol 3-kinase in response to interleukin-1 leads to phosphorylation and activation of the NF-kappaB p65/RelA subunit', *Mol Cell Biol*, 19: 4798-805.
- Sizemore, Nywana, Natalia Lerner, Nicole Dombrowski, Hiroaki Sakurai, and George R. Stark. 2002. 'Distinct Roles of the Ikb Kinase α and β Subunits in Liberating Nuclear Factor κ B (NF- κ B) from Ikb and in Phosphorylating the p65 Subunit of NF- κ B*', *Journal of Biological Chemistry*, 277: 3863-69.
- Smyth, Deborah J., Joanna M. M. Howson, Christopher E. Lowe, Neil M. Walker, Alex C. Lam, Sarah Nutland, Jayne Hutchings, Eva Tuomilehto-Wolf, Jaakko Tuomilehto, Cristian Guja, Constantin Ionescu-Tîrgoviste, Dag E. Undlien, Kjersti S. Rønningen, David Savage, David B. Dunger, Rebecca C. J. Twells, Wendy L. McArdle, David P. Strachan, and John A. Todd. 2005. 'Assessing the validity of the association between the SUMO4 M55V variant and risk of type 1 diabetes', *Nat Genet*, 37: 110-1; author reply 12-3.
- Solinas, G., and M. Karin. 2010. 'JNK1 and IKKbeta: molecular links between obesity and metabolic dysfunction', *FASEB J*, 24: 2596-611.
- Sutherland, Julie P., Benjamin McKinley, and Robert H. Eckel. 2004. 'The Metabolic Syndrome and Inflammation', *Metab Syndr Relat Disord*, 2: 82-104.
- Suwazono, Y., M. Dochi, M. Oishi, K. Tanaka, E. Kobayashi, and K. Sakata. 2009. 'Shiftwork and impaired glucose metabolism: a 14-year cohort study on 7104 male workers', *Chronobiol Int*, 26: 926-41.
- Taguchi, A., D. C. Blood, G. del Toro, A. Canet, D. C. Lee, W. Qu, N. Tanji, Y. Lu, E. Lalla, C. Fu, M. A. Hofmann, T. Kislinger, M. Ingram, A. Lu, H. Tanaka, O. Hori, S. Ogawa, D. M. Stern, and A. M. Schmidt. 2000. 'Blockade of RAGE-amphoterin signalling suppresses tumour growth and metastases', *Nature*, 405: 354-60.
- Takaesu, G., S. Kishida, A. Hiyama, K. Yamaguchi, H. Shibuya, K. Irie, J. Ninomiya-Tsuji, and K. Matsumoto. 2000. 'TAB2, a novel adaptor protein, mediates activation of TAK1 MAPKKK by linking TAK1 to TRAF6 in the IL-1 signal transduction pathway', *Mol Cell*, 5: 649-58.
- Tilg, H., and A. R. Moschen. 2008. 'Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance', *Mol Med*, 14: 222-31.
- Udler, M. S., J. Kim, M. von Grotthuss, S. Bonàs-Guarch, J. B. Cole, J. Chiou, M. Boehnke, M. Laakso, G. Atzmon, B. Glaser, J. M. Mercader, K. Gaulton, J. Flannick, G. Getz, and J. C. Florez. 2018. 'Type 2 diabetes genetic loci informed by multi-trait associations point to disease mechanisms and subtypes: A soft clustering analysis', *PLoS Med*, 15: e1002654.
- Wang, C. Y., and J. X. She. 2008. 'SUMO4 and its role in type 1 diabetes pathogenesis', *Diabetes Metab Res Rev*, 24: 93-102.

- Wei, W., P. Yang, J. Pang, S. Zhang, Y. Wang, M. H. Wang, Z. Dong, J. X. She, and C. Y. Wang. 2008. 'A stress-dependent SUMO4 sumoylation of its substrate proteins', *Biochem Biophys Res Commun*, 375: 454-9.
- Weinberg Sibony, R., O. Segev, S. Dor, and I. Raz. 2024. 'Overview of oxidative stress and inflammation in diabetes', *J Diabetes*, 16: e70014.
- Yang, J., Y. Chi, B. R. Burkhardt, Y. Guan, and B. A. Wolf. 2010. 'Leucine metabolism in regulation of insulin secretion from pancreatic beta cells', *Nutr Rev*, 68: 270-9.
- Yang, Y., Y. He, X. Wang, Z. Liang, G. He, P. Zhang, H. Zhu, N. Xu, and S. Liang. 2017. 'Protein SUMOylation modification and its associations with disease', *Open Biol*, 7.
- Yeh, C. H., L. Sturgis, J. Haidacher, X. N. Zhang, S. J. Sherwood, R. J. Bjercke, O. Juhasz, M. T. Crow, R. G. Tilton, and L. Denner. 2001. 'Requirement for p38 and p44/p42 mitogen-activated protein kinases in RAGE-mediated nuclear factor-kappaB transcriptional activation and cytokine secretion', *Diabetes*, 50: 1495-504.
- Yin, J., Z. Hao, Y. Ma, S. Liao, X. Li, J. Fu, Y. Wu, J. Shen, P. Zhang, X. Li, and H. Wang. 2014. 'Concomitant activation of the PI3K/Akt and ERK1/2 signalling is involved in cyclic compressive force-induced IL-6 secretion in MLO-Y4 cells', *Cell Biol Int*, 38: 591-8.
- Yin, M. J., Y. Yamamoto, and R. B. Gaynor. 1998. 'The anti-inflammatory agents aspirin and salicylate inhibit the activity of I(kappa)B kinase-beta', *Nature*, 396: 77-80.
- Yung, J. H. M., and A. Giacca. 2020. 'Role of c-Jun N-terminal Kinase (JNK) in Obesity and Type 2 Diabetes', *Cells*, 9.
- Zhang, T., Y. Liu, Y. Hu, X. Zhang, L. Zhong, J. Fan, and Z. Peng. 2017. 'Association of donor and recipient SUMO4 rs237025 genetic variant with new-onset diabetes mellitus after liver transplantation in a Chinese population', *Gene*, 627: 428-33.
- Zhao, Y. F., D. D. Feng, and C. Chen. 2006. 'Contribution of adipocyte-derived factors to beta-cell dysfunction in diabetes', *Int J Biochem Cell Biol*, 38: 804-19.
- Zhou, M., Y. Zhang, L. Shi, L. Li, D. Zhang, Z. Gong, and Q. Wu. 2024. 'Activation and modulation of the AGEs-RAGE axis: Implications for inflammatory pathologies and therapeutic interventions - A review', *Pharmacol Res*, 206: 107282.
- Zhou, X., and S. You. 2014. 'Rosiglitazone inhibits hepatic insulin resistance induced by chronic pancreatitis and IKK- β /NF- κ B expression in liver', *Pancreas*, 43: 1291-8.
- Zong, Hongliang, Micheal Ward, and Alan W. Stitt. 2011. 'AGEs, RAGE, and Diabetic Retinopathy', *Curr Diab Rep*, 11: 244-52.

Anexo 01 – Termo de aprovação do comitê de ética

Plataforma Brasil - Ministério da Saúde

Universidade Federal do Paraná - Setor de Ciências da Saúde/SCS - UFPR**PROJETO DE PESQUISA****Título:** Isoformas solúveis do receptor de produtos de glicação avançada (sRAGE) no Diabetes mellitus tipos 1, 2 e gestacional.**Pesquisador:** Mauren Isfer Anghebem Oliveira**Versão:** 1**Instituição:** Universidade Federal do Paraná - Setor de Ciências da Saúde/SCS**CAAE:** 01038112.0.0000.0102**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****Número do Parecer:** 7186**Data da Relatoria:** 28/03/2012**Apresentação do Projeto:**

É um estudo caso-controle para análise de determinadas proteínas (sRAGE) com retirada de sangue em sujeitos portadores de diabetes mellitus tipo I (n=100), tipo II (n= 100) e gestacional (n=100), recrutados na Unidade de Diabetes do Serviço de Endocrinologia e Metabologia do Hospital de Clínicas (HC) da UFPR/SEMPR, além de um grupo controle (n=300) composto de voluntários recrutados também no Hospital de Clínicas da UFPR. Para análises de dados da história clínica, biométricos dos sujeitos, os pesquisadores terão acesso ao prontuário dos sujeitos. As sRAGE encontram-se ligadas a complicações vasculares da diabetes, tendo portanto grande importância na compreensão da fisiopatologia da diabetes e de seu tratamento.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo principal da pesquisa é identificar novos biomarcadores de risco/proteção associados à presença e concentração das isoformas solúveis do receptor para produtos finais de glicação avançada (sRAGE) em portadores de diabetes mellitus tipo I, II ou gestacional. Há o objetivo também de criar um biorepositório.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O projeto detalha de forma clara os riscos e os benefícios da pesquisa. Os riscos consistem nos riscos de um exame de sangue padrão (dor, incômodo, hematoma). Este exame já é feito de rotina nos pacientes portadores de Diabetes do HC, a amostra podendo ser utilizada para a pesquisa mediante o TCLE. Os benefícios são descritos claramente no projeto, assim como nos seus dois TCLE (para portadores de diabetes e controles).

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa faz parte de um projeto de Doutorado em Farmácia e Bioquímica. Ela apresenta metodologia sólida, conforme descrito na análise de mérito criteriosa. Ela faz parte da formação de um biorepositório, nos TCLE está explicitado que as amostras poderão ser utilizadas em pesquisas posteriores.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos necessários foram apresentados. Os TCLE precisam ser modificados para se adequar a legislação sobre biorepositórios.

Recomendações:

O item g dos TCLE tem de ser modificado. Como se trata de uma pesquisa que cria um biorepositório e não biobanco, todas as novas pesquisas necessitarão de TCLE. O TCLE deve ser modificado para se adequar às considerações descritas acima.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Explicar que se trata da criação de um biorepositório nos objetivos. O Projeto de pesquisa pode ser aprovado, se este se adequar a legislação sobre biorepositórios, com modificações no TCLE.

Citar os riscos no TCLE da armazenagem do material biológico.

No TCLE deve-se descrever caso alguma descoberta seja feita referente à pesquisa, os sujeitos tem o direito de saber ou se recusar a saber o resultado da pesquisa.
Cada nova pesquisa necessitará de novo TCLE.
Deve-se descrever no TCLE por quanto tempo a amostra será guardada e como será descartada (ex: riscos ao meio ambiente?).

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

Considerações Finais a critério do CEP:
Não há considerações.
Instituição Co-Participante: Hospital de Clinicas da UFPR.

CURITIBA, 16 de Abril de 2012

Assinado por: Claudia Seely Rocco

Anexo 02 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nós, Prof^a. Dr^a. Fabiane Gomes de Moraes Rego, Prof. Dr. Geraldo Picheth, Prof^a. Dr^a. Izabella Castilhos Ribeiro dos Santos Weiss e Prof^a. Dr^a. Mauren Isfer Anghebem do Departamento de Análises Clínicas, Prof. Dr. Luciano Fernandes Huergo do setor Litoral, Prof. Dr. Rodrigo Arantes Reis do Departamento de Biologia Celular, Cláudia Dib da Costa funcionária do Hospital do Trabalhador, Dr^a. Gislaíne Custódio e Dr. Samuel Ricardo Comar funcionários do Complexo Hospital de Clínicas, Ademir Luiz do Prado, Adriana Teleginski, Bruna Rodrigues Martins, Christiane Mayrhofer Grocoske de Lima, Graciele Cristiane More Manica, Liana Signorini, Louryana Padilha Campos, Mateus Santana Lopes, Patricia Sthefani Calixto, Thanise Pitelli de Nigro, Susan Webber de Souza, Susane Ribeiro de Lima, Waldemar Volanski e Yasmin Neiva Tomaz da Silva discentes do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - da Universidade Federal do Paraná, estamos convidando você a participar de um estudo intitulado “COVID-UFPR: diagnóstico imunológico e biomarcadores para triagem e monitoramento”, que vai avaliar o seu perfil bioquímico (dosagens no sangue como colesterol, glicose, proteínas, entre outras), molecular (estudo no DNA) e teste sorológico para COVID-19 para buscar novos métodos laboratoriais para o diagnóstico desta infecção, auxiliando na limitação da propagação do vírus, o que contribui para o tratamento com maior eficácia dos doentes, em especial àqueles que desenvolvem infecções graves ou que apresentem outras doenças crônicas como o diabetes.

a) O objetivo desta pesquisa é identificação parâmetros clínicos, bioquímicos e sorológicos que possam prever a severidade dos pacientes com COVID-19 e avaliar os aspectos genéticos (aqueles relacionados ao DNA) envolvidos no desenvolvimento do COVID-19 para uma melhor compreensão desta doença. Todos os parâmetros mencionados que indicam uma função biológica são chamados de “biomarcadores”. Pesquisas como esta podem ajudar no desenvolvimento de novas metodologias (testes de laboratório) de diagnóstico (identificar pessoas doentes) e tratamento.

b) Caso você concorde em participar da pesquisa, não será submetido a nenhum procedimento diferente aquele solicitado pelo seu médico. As amostras e dados como (resultados dos exames laboratoriais, idade, sexo) serão obtidos no banco de dados do Laboratório Municipal de Curitiba, Hospital do Trabalhador, do Complexo Hospital de Clínicas, ou da Seção de Atenção e Promoção de Saúde (SAPS) da UFPR. Para deixar claro, você irá fazer seus exames sem que nada seja modificado ou adicionado ao seu pedido de exames.

c) Para tanto quando você comparecer nas () Unidades de Saúde Vila Leão, () Unidade de Saúde Vila Feliz, no () Hospital do Trabalhador, no () Complexo Hospital de Clínicas, ou junto aos () Laboratórios da UFPR cadastrados para realização de testes moleculares de COVID-19, para a coleta do seu exame agendado pelo seu médico e apresentar no mínimo 18 anos de idade, vamos convidá-lo para participar do nosso projeto enquanto aguarda pelo seu atendimento, não sendo necessário tempo adicional além daquele que disponibilizou para fazer seus exames de rotina. Não haverá necessidade de coleta específica para a pesquisa, pois após sua amostra de sangue ser processada (analisada) pelo Laboratório será entregue a nós. Para deixar claro, para sua participação na pesquisa, não será necessário quaisquer deslocamentos ou tempo adicional.

Participante da Pesquisa e/ou Responsável Legal [rubrica]
Pesquisador Responsável ou quem aplicou o TCLE [rubrica]
Orientador [rubrica] CAAE: 43948621.7.0000.0102 Parecer nº: 4.693.314

Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Setor de Ciências da Saúde da UFPR | CEP/SD
Rua Padre Camargo, 285 | térreo | Alto da Glória | Curitiba/PR | CEP 80060-240 |
cometica.saude@ufpr.br - telefone (041) 3360-7259

d) É possível que você experimente algum desconforto, principalmente relacionado ao convite de participar da pesquisa. Esteja certo de que se recusar a participar da pesquisa, não haverá nenhuma consequência ou quaisquer problemas agora ou no futuro.

e) Alguns riscos relacionados ao estudo podem se relacionar com o constrangimento (aborrecimento, incômodo) pela abordagem de nossa equipe. Para evitar isso, procuraremos um local apropriado e reservado para fazer o convite de modo a deixá-lo o mais confortável possível. A cor roxa na pele no local da coleta (hematomas) e irritação das vias aéreas pelo cotonete (swab) que possam ocorrer, serão informados e minimizados pelos profissionais treinados que realizarão a coleta de sua amostra.

f) Os benefícios esperados com essa pesquisa são indiretos e para o futuro, como: 1) melhor conhecimento do perfil bioquímico (alterações no seu sangue), sorológico e molecular (no seu DNA) do COVID-19; 2) a expectativa do desenvolvimento de novos ensaios laboratoriais (novos testes) que permitam um melhor diagnóstico e tratamento da doença; 3) conscientização dos participantes das complicações que as pessoas estão sujeitas; 4) compreensão de que pessoas com diabetes deveriam ser reconhecidos como um grupo vulnerável para complicações da doença e estão em risco durante tempos de sistemas sociais perturbados.

g) Os pesquisadores prof^a. Fabiane Gomes de Moraes Rego e prof. Geraldo Picheth, responsáveis por este estudo poderão ser localizados no Laboratório de Bioquímica Clínica - Prédio de Farmácia no Campus Botânico da Universidade Federal do Paraná, Rua Prefeito Lothário Meissner (Jardim Botânico), 632, e-mail: rego@ufpr.br e gpicheth@ufpr.br; telefone celular: (41) 999121721; telefone fixo: (41) 33604068 e (41) 33604067, no horário comercial de segunda-feira à sexta-feira para esclarecer eventuais dúvidas que a senhora possa ter e fornecer-lhe as informações que queira, antes, durante ou depois de encerrado o estudo.

h) A sua participação neste estudo é voluntária (depende do seu desejo) e se você não quiser mais fazer parte da pesquisa poderá desistir a qualquer momento e solicitar que lhe devolvam este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado. O seu atendimento pelo Laboratório Municipal de Curitiba, pelo Hospital do Trabalhador, pelo Complexo Hospital de Clínicas, na vigilância epidemiológica da Secretaria Municipal de Saúde de Guaratuba ou junto aos laboratórios da UFPR está garantido e não será interrompido caso você desista de participar.

i) O material obtido - amostras biológicas - será utilizado unicamente para essa pesquisa e será descartado ao término do estudo, dentro de 8 anos.

j) As informações relacionadas ao estudo poderão ser conhecidas por pessoas autorizadas (os pesquisadores do projeto), sob forma codificada, para que a **sua identidade seja preservada e mantida sua confidencialidade**.

K) Você terá a garantia de que quando os dados/resultados obtidos com este estudo forem publicados, não aparecerá seu nome e sim um código, preservando desta forma sua identidade.

Participante da Pesquisa e/ou Responsável Legal [rubrica]
Pesquisador Responsável ou quem aplicou o TCLE [rubrica]
Orientador [rubrica]
CAAE: 43948621.7.0000.0102 Parecer n0: 4.693.314

Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Setor de Ciências da Saúde da UFPR | CEP/SD
Rua Padre Camargo, 285 | térreo | Alto da Glória | Curitiba/PR | CEP 80060-240 |
cometica.saude@ufpr.br - telefone (041) 3360-7259

l) As despesas necessárias para a realização da pesquisa, como transporte e dosagens de biomarcadores não são de sua responsabilidade e você não receberá qualquer valor em dinheiro pela sua participação.

m) Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como participante de pesquisa, você pode contatar também o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP/SD) do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, pelo e-mail cometica.saude@ufpr.br e/ou telefone 41 - 3360-7259, das 08:30h às 11:00h e das 14:00h às 16:00h; o Comitê de Ética em Pesquisa CEP/SH-SESA/HT, pelo e-mail cepht@sesa.pr.gov.br e/ou telefone 41 - 3212-5829, das 07:00h às 16:00h; o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HC/UFPR, pelo e-mail cep@hc.ufpr.br e/ou telefone 41 - 3360.1041, das 08:30h às 12:30h e das 13:00h às 14:00h; o Comitê de Ética em Pesquisa da SMS, pelo e-mail etica@sms.curitiba.pr.gov.br e/ou telefone 41 - 3360-4961, das 08:00h às 12:00h e das 13:30h às 17:00h. O Comitê de Ética em Pesquisa é um órgão colegiado multi e transdisciplinar, independente, que existe nas instituições que realizam pesquisa envolvendo seres humanos no Brasil e foi criado com o objetivo de proteger os participantes de pesquisa, em sua integridade e dignidade, e assegurar que as pesquisas sejam desenvolvidas dentro de padrões éticos (Resolução nº 466/12 Conselho Nacional de Saúde).

Eu, _____ li esse Termo de Consentimento e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual concordei em participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem qualquer prejuízo para mim sem que esta decisão afete meu atendimento. Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

Curitiba, ____ de _____ de _____

Assinatura do Participante de Pesquisa ou Responsável Legal

Eu declaro ter apresentado o estudo, explicado seus objetivos, natureza, riscos e benefícios e ter respondido da melhor forma possível às questões formuladas.

Assinatura do Pesquisador Responsável ou quem aplicou o TCLE

CAAE: 43948621.7.0000.0102
Parecer nº: 4.693.314

Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Setor de Ciências da Saúde da UFPR | CEP/SD
Rua Padre Camargo, 285 | térreo | Alto da Glória | Curitiba/PR | CEP 80060-240 |
cometica.saude@ufpr.br - telefone (041) 3360-7259

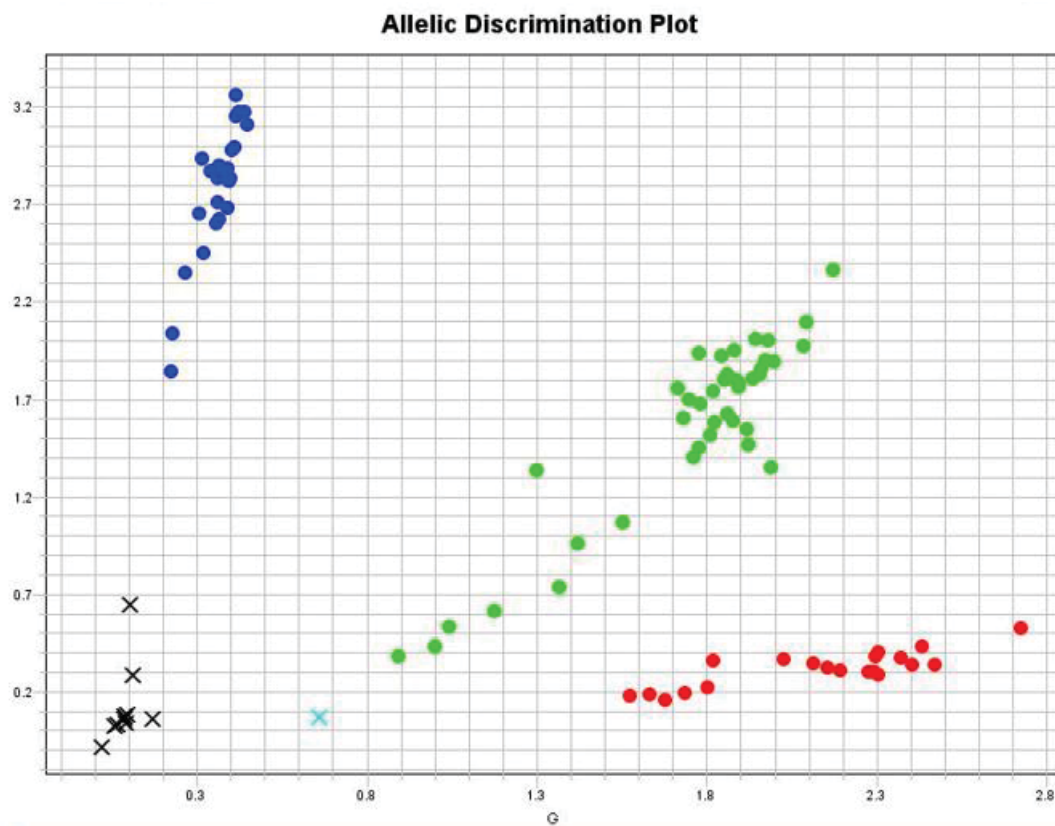
Anexo 03 – Questionário aplicado aos indivíduos participantes da pesquisa

Planilha de coleta de dados:

Caracterização do Paciente		Data
Registro HC:		/ /
Nome:		

Dados clínicos

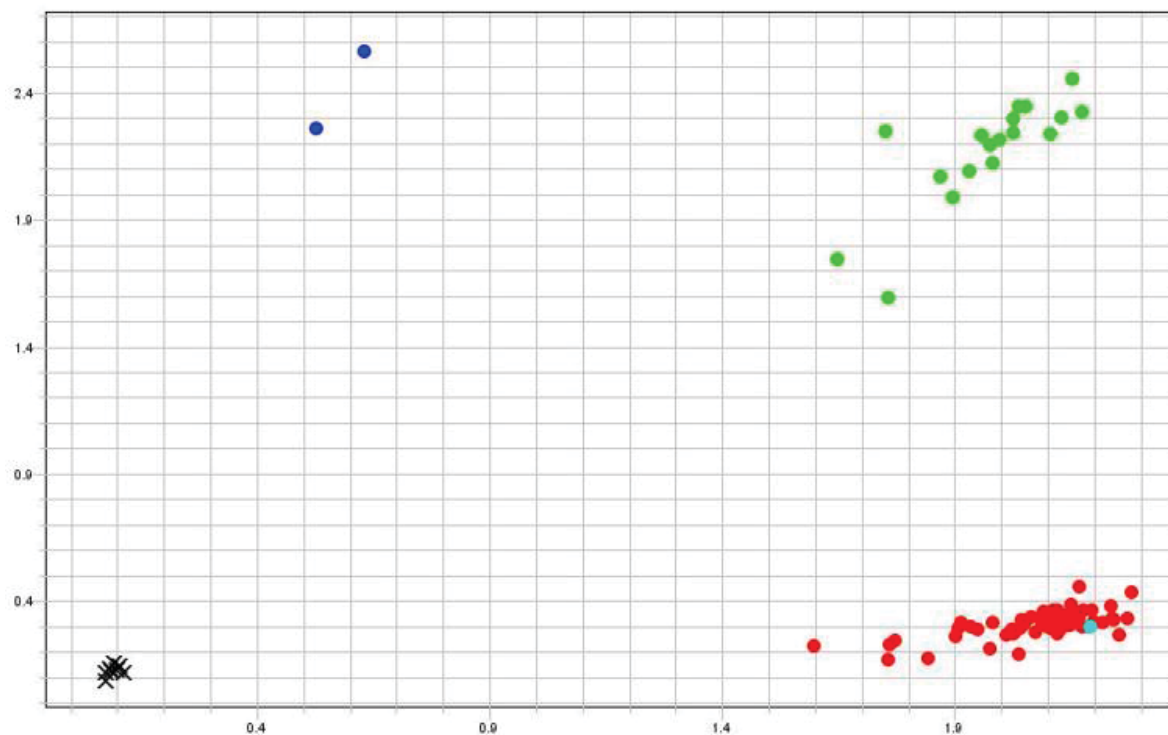
N	Dados	Obs.
1	Idade	[] anos
2	Peso	[]kg
3	Altura	[] cm
4	Etnia	(1)= Euro brasileiro (2)= Afro brasileiro (3)= Índio (4)= Oriental
5	Tipo de Diabetes	(1)= Tipo 1 (2)= Tipo 2 Tempo do início do DM; anos
6	Pressão Arterial (PA)	[]/[] mmHg Medicamentos para pressão:
7	Tabagismo	(1) = Nunca fumou (2) = Ex-fumante (3) = Fumante
8	Histórico Obesidade	(1)= Sim (2)= Não pessoal
9	História familiar de diabetes	Pais: (1) = Sim (2) = Não Avós: (1) = Sim (2) = Não Demais familiares: (1)=Sim (2)= Não Quais:
10	História familiar de DAC	Pais: (1)= Sim (2) Não Avós: (1)= Sim (2)= Não Demais familiares: (1)= Sim (2)= Não
11	História familiar de Doença Tireoideana	Pais: (1)= Sim (2) Não Avós: (1)= Sim (2)= Não Demais familiares: (1)= Sim (2)= Não
12	Medicamentos:	Descrever: Hipolipemiante Tireóide Hipoglicemiante: Insulina:
13	Exames:	Glicemia de jejum: TOTG: Perfil: Pós-prandial: Hb glicada: Creatinina Microalbuminúria: TSH: aTG aTPO Outros:
14	Outras patologias:	Doenças Autoimunes: (1)= Sim (2)= Não
15	Outras observações	

Anexo 04 – PCR em tempo real Taqman para o SNP rs237025 do gene *SUMO4*

Vermelho: G/G; Azul: A/A; Verde: G/A

Anexo 05 – PCR em tempo real Taqman para o SNP rs237027 do gene
TAB2/SUMO4

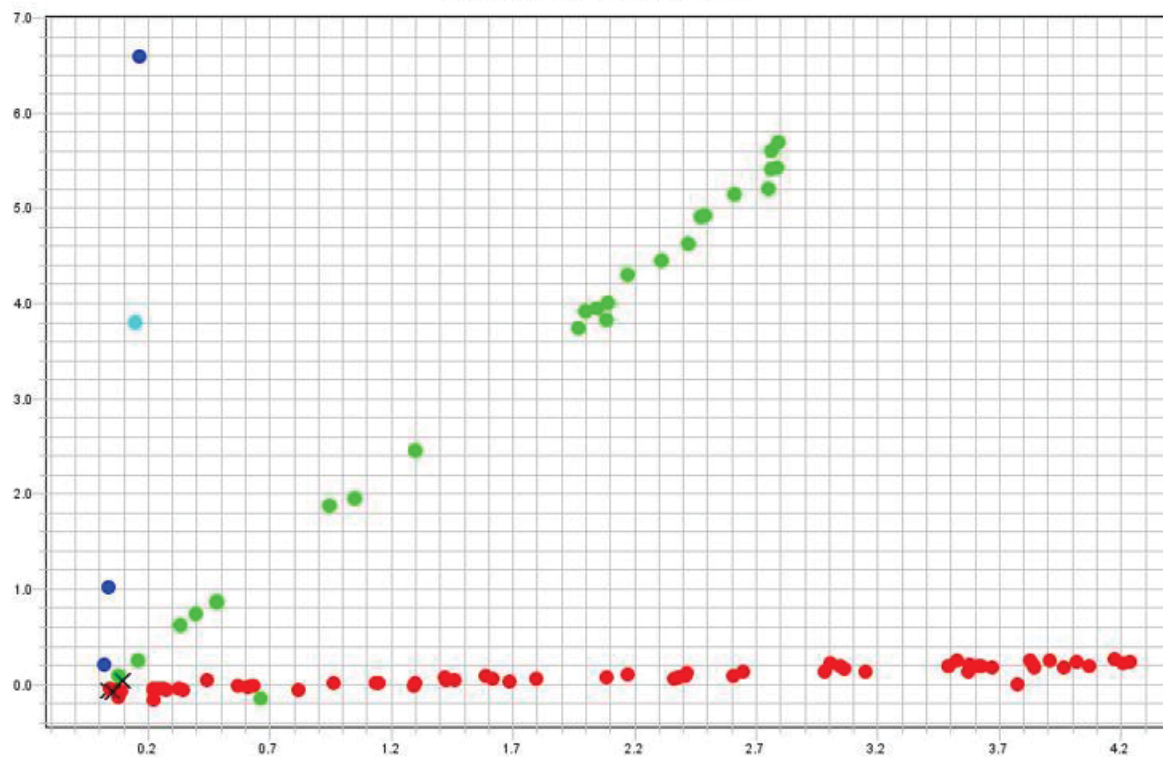
Allelic Discrimination Plot



Vermelho: C/C; Azul: T/T; Verde: C/T

Anexo 06 – PCR em tempo real Taqman para o SNP rs7896 do gene *TAB2/SUMO4*

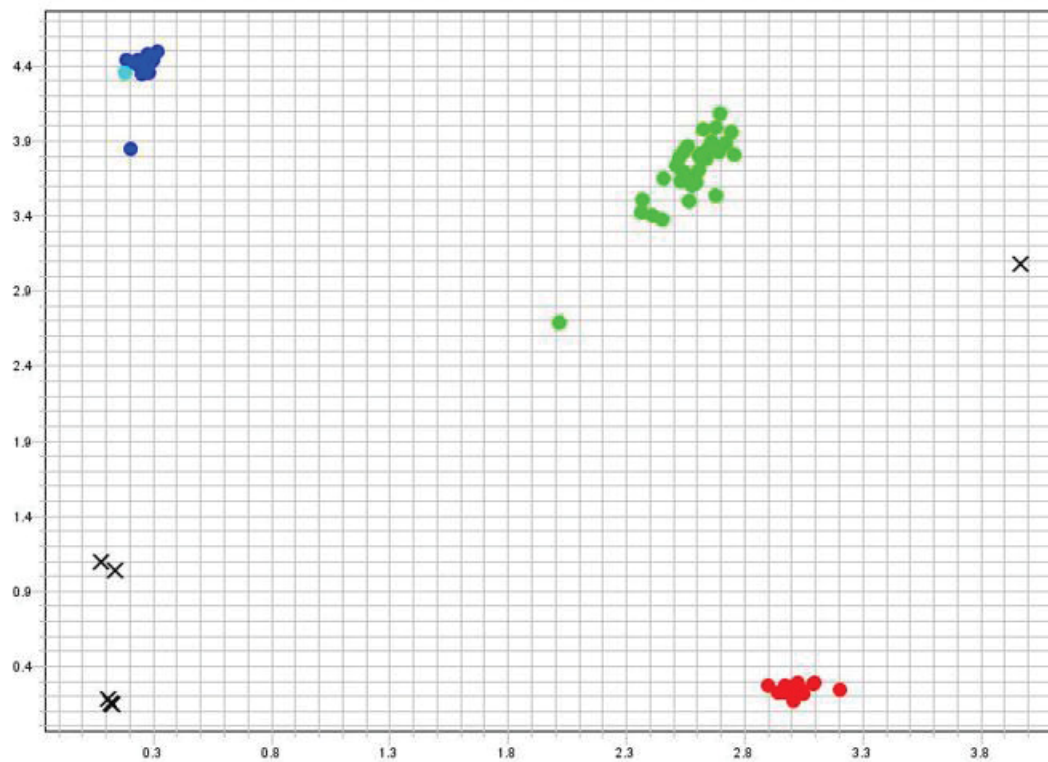
Allelic Discrimination Plot



Vermelho: C/C; Azul: G/G; Verde: C/G

Anexo 07 – PCR em tempo real Taqman para o SNP rs6942381 do gene
TAB2/SUMO4

Allelic Discrimination Plot



Vermelho: C/C; Azul: G/G; Verde: C/G