

**DOUGLAS AMARAL DOS SANTOS**

**MicroRNA-29c-3p é regulado por concentração elevada de glicose e reduz a migração de fibroblastos dérmicos humanos em matriz de colágeno**

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

São Paulo

2023

**DOUGLAS AMARAL DOS SANTOS**

**MicroRNA-29c-3p é regulado por concentração elevada de glicose e reduz a migração de fibroblastos dérmicos humanos em matriz de colágeno**

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

Área de concentração: Biologia Celular, Tecidual e do Desenvolvimento

Orientadora: Profa. Dra. Marinilce Fagundes dos Santos

Versão original

São Paulo

2023

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)  
Serviço de Biblioteca e informação Biomédica  
do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

Ficha Catalográfica elaborada pelo(a) autor(a)

Amaral dos Santos, Douglas

MicroRNA-29c-3p é regulado por concentração elevada de glicose e reduz a migração de fibroblastos dérmicos humanos em matriz de colágeno / Douglas Amaral dos Santos; orientadora Marinilce Fagundes dos Santos. -- São Paulo, 2023.

91 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas.

1. Diabetes Mellitus. 2. Migração celular . 3. Cicatrização deficiente. 4. MicroRNAs. 5. Mir-29c. I. Fagundes dos Santos, Marinilce , orientador. II. Título.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"  
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 – CEP. 05508-000 São Paulo, SP Brasil  
Telefone :(55) (011) 3091.7733 – e-mail: cep@icb.usp.br

---

## CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo registrado sob nº **123** nas fls. **11** do livro **03** para uso de animais em experimentação, sob a responsabilidade do Prof(a) Dr(a) **Marinilce Fagundes dos Santos**, Coordenador (a) da Linha de pesquisa "*Estudo da atividade funcional de fibroblastos na cicatrização de ratos diabéticos*" do qual participam o(s) aluno(s) **Cibele Crastequini Gomes, Douglas Amaral dos Santos, Máira Estanislau Soares de Almeida, Cilene Rebouças de Lima, Mariana Marin Monteiro, Kelly Salzmann Monteiro, Ana Flávia Marçal Pessoa, Robson Lucas Pontes, Caroline Alves de Oliveira Xavier, Paula Rodrigues Sampaio**, está de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotado pela Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório (SBCAL) e foi aprovado pela *COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS* (CEUA) em **26.09.2013**, com validade de **4 anos**.

São Paulo, 30 de setembro de 2013.

Prof. Dr. WOTHAN TAVARES DE LIMA  
Coordenador-CEUA- ICB/USP

Profa. Dra. ANA PAULA LEPIQUE  
Secretária- CEUA - ICB/USP

## AGRADECIMENTOS

À Débora Figueiredo, minha esposa e namorada desde os meus 17 anos. Eu não consigo encontrar palavras para expressar o quanto você é responsável pelo meu caminho até aqui.

À minha orientadora Marinilce Fagundes dos Santos, por ser uma referência na vida acadêmica e pessoal. Agradeço pela oportunidade de embarcar nesta jornada e realizar meu sonho de trabalhar com migração celular. Nossas discussões sobre resultados, migração celular e ciência em geral foram, sem dúvida, a melhor parte desse doutorado.

À Gabriella Malheiros por todo o auxílio com as células HFF, pela amizade e paciência ao longo desses anos.

Agradeço aos colegas de laboratório Carol, Cibele, Cilene, Dayane, Julia, Lídia, Marco, Noemi e Stefanie pelo apoio e por todas as experiências que compartilhamos ao longo desse período.

À professora Fernanda Ortis pelo suporte científico e psicológico, pela sua amizade e paciência. Você tem muita contribuição nos meu desenvolvimento acadêmico e pessoal.

À Cecilia Magalhães, que conheci no dia do ingresso neste doutorado e desde então se tornou uma grande amiga. Sou grato pelo seu suporte científico e emocional ao longo desses anos, especialmente durante o período desafiador da pandemia. Sua capacidade, dedicação e esforço são uma fonte de inspiração para mim. Espero sinceramente ter retribuído de alguma forma todo o auxílio que você me proporcionou.

Aos colegas Vinicius Moraes e Rafael Silva por todas as contribuições e auxílio, especialmente nas etapas finais deste trabalho. Muitos resultados deste estudo não seriam possíveis sem o auxílio de vocês.

Ao Mario Cruz pelo auxílio e paciência com o desenvolvimento de todas as etapas de migração celular 2-D e 3-D. E ao Yuri Valadão, que além de contribuir com a migração celular, sempre foi uma inspiração para mim como cientista.

Aos professores e técnicos do Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento do ICB – USP. Eu precisaria de muitas páginas para descrever a contribuição de vocês no desenvolvimento desse projeto. Além disso, tenho receio de ser injusto e esquecer alguém.

À Sayami Akamine, ex-funcionária do departamento por suas valiosas contribuições no desenvolvimento da metodologia para a extração de colágeno de cauda de rato.

Aos colegas de pós-graduação da leva antiga e das novas gerações pelo convívio, amizade e apoio ao longo de mais de 14 anos de ICB. Gostaria de registrar aqui uma menção ao Alfonso Vivai que nos deixou durante esse período.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq), à CAPES e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro.

## RESUMO

A cicatrização deficiente de feridas é uma complicação importante do Diabetes Mellitus, contribuindo para o aparecimento de feridas crônicas de difícil resolução. Em indivíduos diabéticos, alterações funcionais em fibroblastos contribuem para a cicatrização deficiente, já que estas células proliferam, migram e se diferenciam em miofibroblastos para contrair a ferida. Além disso, os fibroblastos regulam outros tipos celulares e, na fase final da cicatrização, remodelam a matriz extracelular secretando metaloproteinases e diferentes componentes da matriz. A exposição de fibroblastos a uma concentração elevada de glicose, compatível com hiperglicemia, reduz a sua adesão e migração sobre fibronectina de forma dependente do estresse oxidativo e de microRNAs. Estes últimos são pequenos RNAs não codificantes capazes de regular a expressão gênica hibridizando-se e degradando diferentes RNAs mensageiros ou bloqueando a sua tradução. Este estudo teve como objetivos: 1) avaliar os efeitos de uma elevada concentração de glicose sobre a migração de fibroblastos dérmicos humanos em matrizes bidimensionais (2-D) e tridimensionais (3-D) de colágeno tipo I; 2) avaliar os efeitos da glicose elevada sobre a expressão dos microRNAs da família 29 (miR-29a-3p, miR-29b-3p e miR-29c-3p), potenciais reguladores de diversos tipos de colágenos e da adesão celular, assim como as consequências funcionais dessa modulação. Para isso, fibroblastos HFF foram cultivados sob baixa concentração de glicose (5 mM) ou elevada concentração de glicose (30 mM) por 7 dias. A expressão de miR-29a, miR-29b e miR-29c foi avaliada por RT-PCR em tempo real. Foram realizados ensaios de migração direcional por estímulo quimiotático em câmaras bipartite e de migração espontânea em matrizes 2-D e 3-D de colágeno I, utilizando um sistema de time-lapse. Ensaios funcionais foram realizados após superexpressão e supressão de miR-29c utilizando transfecção com oligonucleotídeos miméticos mimics-miR ou inibidores anti-miR. A expressão proteica de integrina  $\beta$ 1 foi avaliada por western blotting. A concentração elevada de glicose reduziu a migração celular direcional estimulada por quimiotaxia. Na migração espontânea, em ambientes 2-D e 3-D, a velocidade e direcionalidade celulares não foram alteradas. A expressão de miR-29c foi aumentada em 50%

pela glicose, sem alterar a expressão de miR-29a e miR-29b. O miR-29c reduziu a migração direcional de fibroblastos em 40% na presença de estímulos quimiotáticos. Na migração espontânea, tanto em ambientes 2-D quanto em 3-D, a velocidade e direcionalidade celulares foram reduzidas pelo miR-29c, acompanhadas de um aumento da adesão celular ao colágeno I e redução da expressão proteica da subunidade  $\beta 1$  de integrinas, alvo potencial de miR-29c. Concluímos que a glicose elevada aumenta a expressão de miR-29c em fibroblastos humanos, contribuindo para a migração deficiente, potencialmente por meio de seu alvo direto integrina  $\beta 1$ . Este efeito pode contribuir para a cicatrização deficiente de feridas observada em pacientes diabéticos.

Palavras-chave: Cicatrização, Diabetes Mellitus, Fibroblastos, MicroRNA, miR-29c



## ABSTRACT

Impaired wound healing is an important complication of Diabetes Mellitus, contributing to the appearance of chronic wounds that are difficult to heal. In diabetic individuals, functional alterations in fibroblasts contribute to poor wound healing, as these cells proliferate, migrate and differentiate into myofibroblasts to contract the wound. In addition, fibroblasts regulate other cell types and, in the last phase of wound healing, remodel the extracellular matrix by secreting metalloproteinases and different matrix components. Exposure of fibroblasts to a high concentration of glucose, compatible with hyperglycemia, reduces their adhesion and migration on fibronectin in a manner dependent on oxidative stress and microRNAs. The latter are small non-coding RNAs capable of regulating gene expression by hybridizing and degrading different messenger RNAs or blocking their translation. This study aimed to: 1) evaluate the effects of a high glucose concentration on the migration of human dermal fibroblasts in two-dimensional (2-D) and three-dimensional (3-D) matrices of type I collagen; 2) to evaluate the effects of high glucose on the expression of microRNA 29 isoforms (miR-29a-3p, miR-29b-3p and miR-29c-3p), potential regulators of different types of collagen and cell adhesion molecules, as well as the functional consequences of this modulation. HFF fibroblasts were cultured under low glucose (5 mM) or high glucose (30 mM) for 7 days. The expression of miR-29a, miR-29b and miR-29c was evaluated by real-time RT-PCR. Directional migration assays stimulated by chemotaxis were performed in bipartite chambers and spontaneous migration in 2-D and 3-D collagen I matrices, using a time-lapse system. Functional assays were performed after overexpression and suppression of miR-29c, transfecting cells with miR-mimetic oligonucleotides or anti-miR inhibitors.  $\beta$ 1 integrin protein expression was evaluated by western blotting. High glucose decreased chemotaxis-stimulated directional cell migration. In spontaneous migration, in 2-D and 3-D environments, cellular velocity and directionality were not altered. The expression of miR-29c was increased by 50% by glucose, without changing the expression of miR-29a and miR-29b. miR-29c reduced the directional migration of fibroblasts by 40% in the presence of chemotactic stimuli. In spontaneous migration, both in 2-D and 3-D environments, cell speed and directionality were

reduced by miR-29c, accompanied by an increase in cell adhesion to collagen I and a reduction in protein expression of  $\beta$ 1 integrin, a potential miR-29c target. In conclusion, high glucose increases miR-29c expression in human fibroblasts, contributing to deficient migration, potentially through its direct target  $\beta$ 1 integrin. This effect may contribute to the impaired wound healing observed in diabetic patients.

Keywords: Wound healing, Diabetes Mellitus, Fibroblasts, MicroRNA, miR-29c

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGEs – *Advanced glycation end-products* (produtos finais de glicação avançada)

CHO.K1 - Linhagem de células ovário de hamster chinês

CTGF - *Connective Tissue Growth Factor* (fator de crescimento do tecido conjuntivo)

cDNA – DNA complementar

DM - Diabetes Mellitus

DM1 - Diabetes Mellitus Tipo 1

DM2 - Diabetes Mellitus Tipo 2

DMEM - Dulbecco's Modified Eagle's Medium

DMG - Diabetes Mellitus Gestacional

DNA - Ácido desoxirribonucleico

EROs - Espécies Reativas de Oxigênio

FAK - *Focal adhesion kinase* (Quinase de adesão focal)

GEO - *Gene Expression Omnibus*

GLUT4 - *glucose transporter 4* (transportador de glicose 4)

GTPases - Proteínas que ligam e hidrolisam GTP

HG - *High glucose* (alta concentração de glicose)

HFF - *Human Foreskin Fibroblasts* (fibroblastos de prepúcio humano)

HSP47 - *Heat-shock protein 47* (Proteína de choque térmico 47)

HRP - Peroxidase Ligada à Horseradish

IDF - International Diabetes Federation

JNK - *Jun N-terminal kinase* (Quinase N-terminal Jun)

MAb - Anticorpo monoclonal

MEC - Matriz Extracelular

MMP - Metaloproteinase de matriz

miR - MicroRNA

miR-29a - MicroRNA 29a

miR-29b - MicroRNA 29b

miR-29c - MicroRNA 29c

RNAm - RNA mensageiro

NIH - National Institutes of Health

PDGF - *Platelet-derived Growth Factor* (Fator de crescimento derivado de plaquetas)

PFA - Paraformaldeído

PCR - *Polymerase chain reaction* (reação em cadeia de polimerase)

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Diabetes mellitus e suas complicações

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2022), cerca de 422 milhões de pessoas no mundo têm Diabetes Mellitus (DM), principalmente em países de baixa e média renda, e aproximadamente 1,6 milhão de mortes são atribuídas diretamente a esta doença a cada ano. No Brasil, mais de 13 milhões de indivíduos têm esta patologia (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2020). A incidência de diabetes no mundo foi de 4,6% em 2000, aumentou rapidamente para 10,5% em 2021 e, de forma alarmante, a previsão é de que os casos cheguem a 783 milhões até 2045 (ATLAS IDF, 2021). Recentemente estudos mostraram que pessoas com diabetes são mais susceptíveis às complicações da COVID-19 (CORRAO et al., 2021; KOUNTOURI et al., 2021).

Definida como um grupo de distúrbios metabólicos, o DM é uma doença crônica endócrina e metabólica que ocorre por insuficiência na produção de insulina, resistência à insulina (RI), ou ambas. Independentemente de sua etiologia, o DM se caracteriza pela hiperglicemia crônica, que leva a diversas complicações clínicas em longo prazo, principalmente relacionadas ao estresse oxidativo e à formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs), que causam alterações irreversíveis em proteínas intracelulares e extracelulares, potencialmente afetando sua função (PACHER et al., 2007; IGHODARO, 2018). Como exemplos de proteínas afetadas, temos o *Transforming Growth factor*® (TGF-®) e o *Connective Tissue Growth Factor* (CTGF) (BROWNLEE, 2001). Estresse oxidativo e AGEs, atuando provavelmente em combinação, são responsáveis pelo desenvolvimento de complicações crônicas importantes (CHIARELLI et al., 2000).

A patologia do DM está fortemente associada a fatores genéticos e histórico familiar, hábitos alimentares, sedentarismo, envelhecimento e fatores comportamentais, como por exemplo o tabagismo (CHEN, MAGLIANO, ZIMMET, 2011; BHATTI et al., 2016). Existem três formas principais de diabetes amplamente aceitas: diabetes mellitus tipo 1 (DM1), diabetes mellitus tipo 2

(DM2) e diabetes mellitus gestacional (DMG). Dentre essas, o DM2 é responsável por aproximadamente 90% de todos os casos de diabetes (EVANS, 2000).

O DM1 ou diabetes mellitus insulino-dependente é considerado uma doença autoimune na qual há destruição das células  $\beta$  pancreáticas. O DM1 é associado a fatores genéticos e é prevalente em crianças e adolescentes (KATSAROU et al., 2017; BARNETT, 2018). Quando o início sintomático do DM1 é percebido, mais de 85% da massa de células  $\beta$  já foi destruída, levando à deficiência de insulina e conseqüente elevação da glicemia. É importante ressaltar que a hiperglicemia aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) que, por sua vez, reduzem a secreção e a ação da insulina (SAKURAI, TSUCHIYA, 1988).

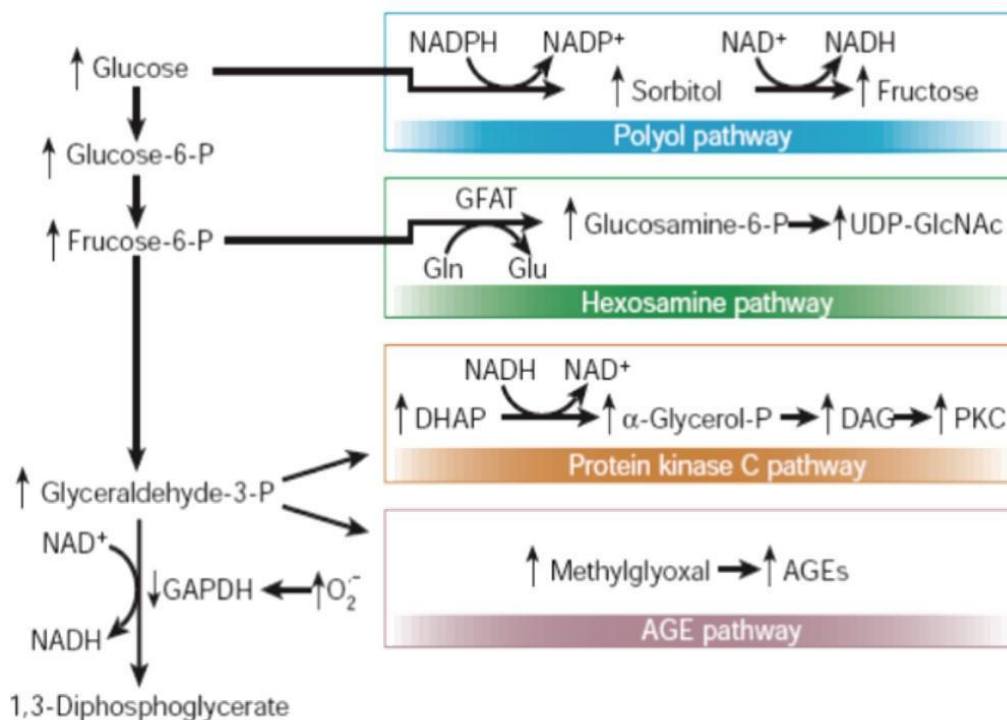
O DM2 ou diabetes mellitus independente de insulina é caracterizado por hiperglicemia causada por diversos processos patológicos, como diminuição da secreção de insulina e, também, resistência à ação da insulina. Nos estágios iniciais do DM2, o aumento da produção de insulina é indispensável para manter o nível de glicose no sangue, superando a resistência à insulina. No entanto, com a progressão da doença, a secreção aumentada de insulina não é mais suficiente para compensar essa resistência e, com frequência, a função do pâncreas fica comprometida (ROCHETE et al., 2014). Obesidade, sobrepeso, componentes genéticos (por exemplo envolvendo genes da cadeia pesada da miosina), estilo de vida sedentário e idade avançada são potenciais fatores relevantes para o desenvolvimento do DM2 (OLSSON et al., 2011). Além disso, evidências convincentes mostraram que o estresse oxidativo resulta em DM2 mais grave, diminuindo a secreção e a função da insulina e causando muitas complicações microvasculares e macrovasculares, devido a danos ao DNA, proteínas e/ou lipídios (AYEPOLA; BROOKS; OGUNTIBEJU, 2014). Complicações micro e macrovasculares são a principal causa de morbidade e mortalidade no DM2, sendo que a glicemia não controlada é considerada o principal agente etiológico de complicações do DM2 (KHALLID; PETROIANU; ADEM, 2022).

O Diabetes mellitus gestacional (DMG) refere-se à hiperglicemia leve que é detectada pela primeira vez durante o segundo e o terceiro trimestre da gravidez. O DMG é caracterizado por intolerância à glicose e resistência à insulina associada à secreção hormonal da placenta, obesidade, história familiar, aumento da inflamação e estresse oxidativo na placenta e no feto. A descompensação do estresse oxidativo pode desempenhar um papel crítico no DMG, diminuindo o índice de sensibilidade à insulina (MOHSEN et al., 2018). Mulheres grávidas com DMG e seus filhos têm um risco maior de desenvolver DM2 (BELLAMY et al., 2009).

As respostas dos tecidos às condições de longo prazo do diabetes podem variar de acordo com a capacidade de transporte de glicose pelas células e das defesas antioxidantes de cada tipo celular (BROWNLEE, 2001). Dentre as principais complicações causadas pelo DM destacam-se as alterações microvasculares, a neuropatia, a retinopatia, a nefropatia diabética e a cicatrização deficiente (TSILIBARY, 2003). Alterações precoces na microvascularização causam aumento da permeabilidade vascular e alterações do fluxo sanguíneo, contribuindo para o surgimento de feridas cutâneas crônicas, principalmente nos membros inferiores (AGUIAR; VILLELA; BOUSKETA, 2007). A neuropatia diabética também contribui para alterações teciduais, inclusive ósseas, e redução da sensibilidade. Esses fatores, quando combinados, influenciam nas mudanças das características biomecânicas da pele, resultando em maior rigidez. O pé de uma pessoa com diabetes possui uma resistência reduzida ao estresse em comparação com o pé de um indivíduo saudável quando submetido à mesma carga mecânica, o que aumenta sua vulnerabilidade a rupturas (PARK, 2017; LECHNER et al., 2019, KWAK et al., 2020). Com isso, ocorre um aumento da prevalência de feridas crônicas, incluindo úlceras nos pés, úlceras de pressão, úlceras venosas e outras feridas que não cicatrizam (SEN, 2019; OLSSON et al., 2019), resultando em complicações como dor, infecção e, eventualmente, amputação de membros inferiores (GREENHALG, 2003; NOOR et al., 2017; SONG, 2022).

## 1.2 Hiperglicemia e funções celulares

Existem diversas vias bioquímicas intracelulares alteradas pela hiperglicemia, como por exemplo a via do polioli e das hexosaminas; no entanto, o estresse oxidativo ocasionado pela geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a glicação de proteínas por AGEs ocupam um papel central no dano celular e tecidual. A hiperglicemia induz a geração de EROs principalmente por meio do metabolismo mitocondrial (BROWNLEE, 2001; 2005; LEE et al., 2003) e, também, pela ativação de diferentes vias metabólicas intracelulares. Uma vez formadas, as EROs oxidam lipídeos, DNA e proteínas, ocasionando alterações na estrutura e função celulares. Além do dano oxidativo, as EROs também podem atuar como segundos mensageiros na regulação de vias sinalizadoras intracelulares e de expressão gênica, estimulando a produção de fatores de crescimento e de proteínas da matriz extracelular, bem como alterando a expressão de metaloproteinases de matriz (MMPs) (HA; LEE, 2003, 2005; LEE et al., 2003; MASON; WAHAB, 2003).



**Figura 1. O aumento do metabolismo intracelular da glicose na hiperglicemia aumenta a geração de espécies reativas de oxigênio.** Fonte: BROWNLEE, 2021.



Algumas complicações crônicas consequentes da hiperglicemia parecem também estar associadas com a função alterada de fibroblastos. Após uma lesão, os fibroblastos são estimulados a proliferar por fatores de crescimento liberados do coágulo hemostático (predominantemente TGF- $\beta$  e PDGF) e então migram para a área da ferida. Por volta do terceiro dia, a ferida torna-se rica em fibroblastos que depositam componentes da matriz extracelular (ácido hialurônico, fibronectinas e proteoglicanos, por exemplo) e, posteriormente, produzem colágenos fibrilares. O tecido resultante, vascular e rosado, que substitui o coágulo no local de uma ferida é denominado tecido de granulação. A matriz extracelular desse tecido provisório é composta por uma gama diferente de colágenos, com uma proporção maior de colágeno tipo 3, quando comparado ao tecido não ferido. Uma vez que matriz suficiente tenha sido produzida, muitos fibroblastos adquirem um fenótipo de miofibroblastos, mais contráteis e com atividade pró-fibrótica. Os miofibroblastos promovem a contração da ferida, além de promover a angiogênese por meio da regulação da atividade das metaloproteases. Os colágenos fibrilares sintetizados pelos fibroblastos são os componentes-chave para conferir resistência aos tecidos (SINGH; YOUNG; MCNAUGHT, 2017).

Foram relatadas alterações na função de fibroblastos em vários modelos relacionados ao DM. A exposição a níveis elevados de glicose demonstrou induzir apoptose em fibroblastos presentes no tendão (SONG, 2022). Loots et al. (1999) demonstraram que fibroblastos derivados de úlceras crônicas de pacientes diabéticos proliferam menos que aqueles derivados de pacientes normoglicêmicos e respondem diferentemente a fatores de crescimento mitogênicos. Em camundongos diabéticos, a migração de fibroblastos estava diminuída em torno de 75% (Lerman et al., 2003). Fibroblastos dérmicos de humanos com DM2 apresentaram aumento na secreção de citocinas pró-inflamatórias e redução na proliferação, migração e na expressão de metaloproteases (AL-RIKABI, 2021). Nosso grupo estudou a migração de fibroblastos derivados de ratos diabéticos ou de diferentes origens expostos *in vitro* a uma elevada concentração de glicose (25-30 mM) e observamos uma deficiência na migração espontânea sobre colágeno tipo I e fibronectina

(LAMERS et al., 2011; ALMEIDA, et al., 2011). As células apresentavam velocidade reduzida, perda da direcionalidade e aumento da quantidade de protrusões simultâneas em direções variadas, associadas à elevada atividade da GTPase Rac1. Estas protrusões eram, no entanto, improdutivas, retraindo-se rapidamente devido a uma deficiência na maturação das adesões junto à matriz extracelular (LAMERS et al., 2011). Muitos dos efeitos da glicose foram revertidos por um agente antioxidante. Recentemente, demonstramos também que o microRNA-31 (miR-31) está aumentado em células NIH-3T3 expostas à glicose elevada de forma dependente do estresse oxidativo, assim como em fibroblastos derivados da derme de ratos diabéticos (GOMES, 2015; 2021).

De acordo com os resultados obtidos pelo nosso grupo de pesquisa, observamos que fibroblastos dérmicos derivados de ratos diabéticos e células NIH3T3 expostas à glicose elevada durante 3 dias, quando observadas por microscopia eletrônica de transmissão, apresentaram dilatação significativa do retículo endoplasmático (RE) e um aumento no número de vesículas intracelulares com conteúdo ainda não determinado (SANTOS, 2015). Células NIH-3T3 apresentaram também alteração na morfologia das mitocôndrias, compatível com o fenômeno conhecido como “mitochondrial swelling”. A morte celular, no entanto, não foi afetada e figuras de autofagia não foram observadas. A expressão dos marcadores de estresse do RE: BiP, XBP1 spliced (XBP1s) e CHOP não foi alterada pela exposição destas células à elevada concentração de glicose. Resultados semelhantes foram observados em fibroblastos derivados de animais diabéticos, quando comparados a animais controle. Esses resultados sugerem que a disfunção de fibroblastos frente à exposição a uma elevada concentração de glicose não está diretamente relacionada a uma indução do estresse de RE ou autofagia (SANTOS, 2015). Wang et al. (2014) obtiveram um achado semelhante ao estudar células mesangiais expostas à glicose elevada. Eles observaram um cenário de estresse no retículo endoplasmático (RE), decorrente do aumento da síntese intracelular de ácido hialurônico, o que resultou em autofagia e na liberação de uma matriz extracelular (MEC) rica em ácido hialurônico, com propriedades adesivas para monócitos.

A presença de AGEs independente da HG também pode prejudicar a função de fibroblastos. O tratamento de fibroblastos dérmicos com glioxal causou

redução na proliferação e migração e prejudicou a secreção e maturação de colágeno tipo 1, prevenindo sua deposição na MEC (GUILLON et al., 2021). O cultivo de fibroblastos em MEC de colágeno glicado mostrou alterações na localização de FAK e paxilina prejudicando a formação de adesões e a migração dessas células. Esses fibroblastos ainda apresentaram acúmulo de proteínas não enoveladas, o que pode indicar a indução de estresse do RE (LOUGHLIN; ARTLETT, 2010).

### **1.3 Diabetes e cicatrização deficiente**

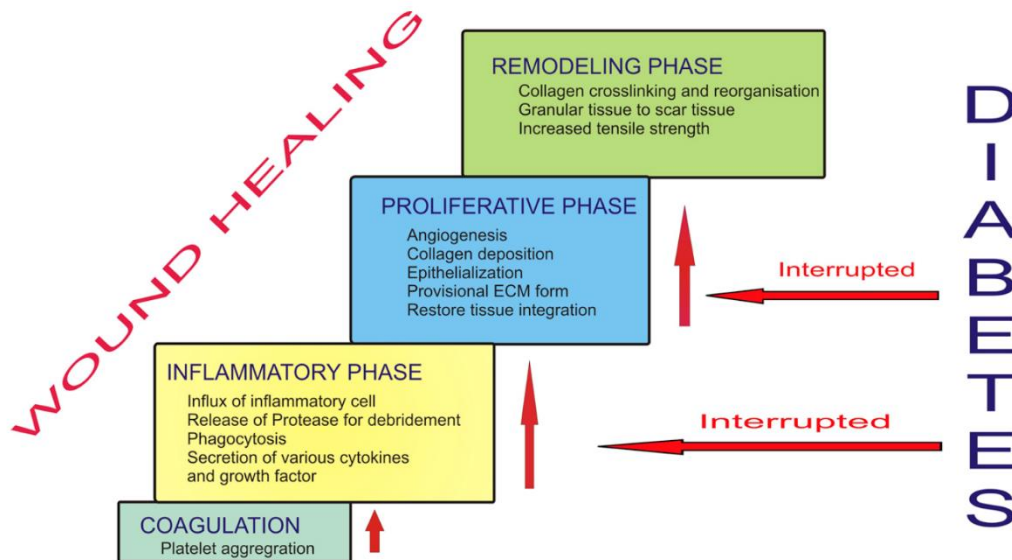
Dentre as complicações mais comuns e relevantes da HG encontra-se a cicatrização deficiente, que pode resultar no desenvolvimento de feridas crônicas nas extremidades inferiores em pacientes diabéticos (KUNKEMOELLER; KYRIAKIDES, 2017). Feridas crônicas e seu tratamento são um enorme fardo para o sistema público de saúde e o custo geral para a sociedade e para os indivíduos, principalmente, é a perda de produtividade e de qualidade de vida.

A cicatrização de feridas dérmicas é um processo altamente coordenado que ocorre em três fases sobrepostas: (1) inflamação, que inclui hemostasia, recrutamento de células inflamatórias, secreção de citocinas e fatores de crescimento; (2) proliferação, caracterizada pela formação da matriz provisória, angiogênese e reepitelização; e (3) remodelação, na qual o tecido de granulação é reorganizado e a cicatriz madura é formada. Na ferida diabética, cada uma dessas fases está comprometida, interrompendo e retardando a progressão ordenada do processo cicatricial (KUNKEMOELLER; KYRIAKIDES 2017; PATEL et al., 2019; SINGH; YOUNG; MCNAUGHT, 2017; CEN et al., 2022).

O processo normal de cicatrização inicia-se com a hemostasia que verifica a perda de sangue e a invasão de microorganismos na área ferida. Esta fase é rapidamente seguida e sobreposta por uma fase inflamatória, reguladas positivamente por neutrófilos, seguido por macrófagos que removem detritos e patógenos juntamente com fatores de crescimento, outras citocinas e células. A fase proliferativa se sobrepõe à fase inflamatória na qual ocorre a formação de novos tecidos, novos vasos sanguíneos e a construção de uma nova matriz para preencher a área ferida. A fase final de remodelação aumenta a resistência à

tração da matriz extracelular e reduz o suprimento sanguíneo para a área danificada. O processo de cicatrização é prejudicado principalmente por uma fase de inflamação prolongada, prejuízos na proliferação celular, redução na vascularização, produção de componentes de MEC como o ácido hialurônico e inibição na ativação e proliferação de fibroblastos, além da indução de senescência (MILAN et al., 2016; ZOU et al., 2021). Esses fatores contribuem para o retardo no processo de regeneração celular, incluindo reepitelização e formação do tecido de granulação (NGUYEN et al., 2020). Esse microambiente conta também com menor oferta de oxigênio, morte e diminuição na migração dos fibroblastos, degradação anormal da matriz e estresse oxidativo (SINGH et al., 2013, 2015).

O prejuízo à MEC ocorre pelo dano de radicais livres que, embora sejam importantes nos estágios iniciais da cicatrização, se tornam exacerbados devido à hiperglicemia e redução das defesas antioxidantes. Outro fator importante é a alta presença de AGEs que causam alterações estruturais nas proteínas da MEC (BURGESS et al., 2021). Pagon et al., (2015) demonstraram que a MEC glicada favorece o acúmulo de matriz e prejudica a angiogênese, aspectos que são características do envelhecimento da pele. A presença de AGEs leva à ativação de seus receptores (receptores de produtos finais de glicação avançada, em inglês *RAGE*) que, como já mencionado, causam alterações a nível celular (BURGESS et al., 2021). No entanto, ainda existem poucos estudos que abordaram os efeitos da hiperglicemia sobre a migração dos fibroblastos, sobre as propriedades físicas da MEC e sobre a sua renovação, aspectos essenciais para a cicatrização tecidual.



**Figura 2. Interrupção do processo normal de cicatrização causado pelo diabetes.**  
 Fonte: Patel et al., 2019.

#### 1.4 Migração celular 2D x 3D

A migração pode ser considerada um fenômeno cíclico: começa com uma resposta das células a um sinal externo que leva à polarização e extensão de uma protrusão (lamelipódio ou filopódio) na direção do movimento. A formação de adesões focais envolve diversas proteínas como as integrinas (receptores para proteínas da MEC), que unem a protrusão ao substrato sobre o qual a célula está migrando. Estas adesões servirão, em parte, como pontos de tração para a migração, também iniciando uma sinalização que regulará a dinâmica da adesão e a atividade protrusiva. A contração move o corpo celular para a frente; à medida que a célula retrai, tem início um novo ciclo (SENGUPTA; PARENT; BEAR, 2022). Obviamente, todo este ciclo depende de modificações do citoesqueleto de actina e tubulina (HORWITZ; WEBB, 2003), que são reguladas por GTPases da família Rho. Essas proteínas atuam entre dois estados conformacionais: um estado inativo, quando estão ligadas ao GDP (guanossina difosfato) e um estado ativo, quando estão ligadas ao GTP (guanossina trifosfato) (HODGE; RIDLEY, 2016).

A habilidade das células de migrar na MEC e de remodelá-la depende tanto das propriedades celulares quanto de características bioquímicas e físicas

da MEC. Os mecanismos de regulação da migração celular, principalmente de fibroblastos e células tumorais, têm sido estudados extensivamente em modelos de cultura 2-D (DOYLE; NAZARI; YAMADA, 2022). No entanto, as discrepâncias entre o comportamento das células em cultura e *in vivo* têm levado a um número cada vez maior de pesquisadores a utilizar modelos 3-D, que representam melhor o microambiente tecidual. Os ligantes em modelos 2-D geralmente estão distribuídos homoganeamente e em baixas concentrações por unidade de área, enquanto modelos de MEC 3-D consistem de ligantes fibrilares compactados em graus variados.

Em culturas 3-D, fibroblastos migratórios possuem suporte dorsal e ventral de MEC, ao invés da polaridade dorso-ventral artificial associada aos modelos 2-D. Os fibroblastos respondem a sinais químicos e físicos presentes na matriz extracelular circundante, o que apresenta desafios adicionais devido à presença de gradientes na matriz, espaço restrito e interações celulares complexas. Nesse contexto, as células adquirem uma morfologia polarizada, com protruções de membrana direcionadas ao ambiente circundante. Elas utilizam uma combinação de mecanismos de movimento, como contração, protrusão e adesão, para se locomoverem eficientemente no espaço tridimensional. Além disso, o posicionamento e o tamanho do núcleo representam um desafio físico interno importante durante a migração 3D, já que a célula precisa atravessar pequenos poros na matriz extracelular e para isso regula diversas proteínas, como p. ex. as laminas (ZHU; LIU; GUNDERSEN, 2017; WU; GILKES; WIRTZ, 2018; YAMADA; SIXT, 2019).

As integrinas geram sinalização diferenciada em resposta a uma matriz 2-D rígida e simples, ou a uma matriz 3-D, maleável e complexa (CUKIERMAN; PANKOV; YAMADA, 2002; GRINNELL, 2003; GRIFFITH; SCHWARTZ, 2006; YAMADA; SIXT, 2019). Alterações na consistência e arquitetura do substrato afetam a distribuição das integrinas, que passam por uma alteração conformacional para o estado ativo. Em conjunto com a miosina 2 e outras proteínas que compõem as adesões focais, as células respondem contraindo-se de acordo com a rigidez da MEC (ZAMAN et al., 2006; DOYLE et al., 2015). Proteínas de adesão focal como talina e paxilina, por exemplo, são reduzidas em células em matrizes 3-D, por um mecanismo que requer a integrina  $\alpha 5 \beta 1$  (WANG

et al., 2003). De maneira geral, pode-se afirmar que em matrizes 3-D os processos celulares relativos à migração são mais discretos que aqueles já descritos em culturas 2-D; no entanto, sob condições em que a rigidez do substrato é aumentada, estes processos podem se tornar mais exacerbados.

## 1.5 MicroRNAs

MicroRNAs (miRNAs) são pequenos RNAs endógenos não codificantes com aproximadamente 19-25 nucleotídeos de comprimento e estão localizados nos éxons ou íntrons de genes codificadores (RODRIGUEZ et al., 2004). Eles são importantes reguladores negativos da expressão gênica pós-transcricional, podendo regular mais de 60% dos genes codificadores de proteínas em humanos (FRIEDMAN et al., 2009).

Foram inicialmente descobertos no nematoide *Caenorhabditis elegans* em 1993 (WIGHTMAN; HA; RUVKUN, 1993), e desde então vem sendo descritos novos microRNAs maduros em diversas espécies e mais de 2.500 miRNAs foram identificados no genoma humano. A maioria dos miRNAs são transcritos pela RNA polimerase II a partir de longos transcritos primários conhecidos como pri-miRNAs. O Pri-miRNA é cortado na molécula precursora do *loop hairpin* (pré-miRNAs), com aproximadamente 70 nucleotídeos de comprimento, no núcleo pela RNase III nuclear Drosha (LEE et al., 2003). Esta estrutura *hairpin*, referida como pré-miRNA, é transportada do núcleo para o citoplasma através do transportador exportina 5 (LUND et al., 2004), onde é processado em miRNAs maduros de fita dupla de ~22 nucleotídeos de comprimento por Dicer RNase III enzima (KETTING et al., 2005). Os pré-miRNAs geralmente contêm as sequências de vários miRNAs maduros. Uma fita de miRNA maduro é degradada, enquanto a outra se integra em um complexo de silenciamento induzido por RNA (RISC) através do carregamento nas proteínas Argonauta (PRAT; MACRAE, 2009). O prefixo sem maiúscula “mir-” refere-se à forma precursora, enquanto “miR-” refere-se à forma madura. O sufixo -3p ou -3q é usado para denotar de qual extremidade do pré-miRNA o miRNA maduro se origina. Embora alguns miRNAs reprimam um único alvo, a maioria exerce seus efeitos como alterações modestas em vários alvos através

de ligações imperfeitas que cumulativamente podem alterar os fenótipos celulares (BAEK et al., 2008).

A regulação gênica mediada por miRNAs ocorre por meio de dois mecanismos principais. Em primeiro lugar, através da repressão da tradução do RNA mensageiro (RNAm) alvo por miRNAs bloqueando o início da tradução e/ou alongamento (PILLAI et al., 2005, NOTTROT, SIMARD, RITCHER, 2006). Em segundo lugar, os miRNAs podem se ligar aos RNAm, promovendo a degradação do RNA por meio de deadenilação acelerada e decapeamento (HUNTZINGER; IZAURRALDE, 2011; IPSARO; JOSHUA-TOR, 2015).

Os miRNAs desempenham papéis críticos em vários processos fisiológicos e patológicos, devido aos seus padrões de expressão únicos e sua capacidade de direcionar numerosos transcritos, muitas vezes no mesmo processo biológico. Os miRNAs também apresentam perfis de expressão diferentes, potencialmente regulando a expressão de muitos genes de uma maneira tecido-específica em condições fisiológicas e patológicas (CALIN; CROCE, 2006; YANAIHARA et al., 2006). Eles operam em redes complexas em que um RNAm pode ser regulado por vários miRs e um miRNA pode regular vários alvos (ESQUELA-KERSHER; SLACK, 2006); atuam regulando diversos mecanismos celulares, tais como diferenciação, apoptose, adesão, proliferação e migração celular, e ainda podem contribuir diretamente no remodelamento da MEC (YU et al., 2005; CAI et al., 2009; HUANG; HE, 2010). A desregulação de miRNAs em estados patológicos pode ser usada para desenvolver biomarcadores (WANG; CHEN; SEM, 2015) e fornecer informações sobre a base fisiopatológica subjacente da doença.

## **1.6 MiRNAs na cicatrização de diabéticos**

Além das complicações já relatadas, a hiperglicemia altera o perfil e a ação dos miRNAs e seu papel na regulação das diferentes fases da cicatrização, em condições fisiológicas e patológicas como no diabetes (MULHOLLAND; DUNNE; McCARTHY, 2017; GOODARZI; MANIATI; QUJEQ, 2018; MENG et al., 2018; SOLIMAN et al., 2018). É importante ressaltar que a resistência à insulina, uma causa subjacente do desenvolvimento de diabetes tipo 2, pode estar presente muito antes de qualquer alteração na glicose circulante ser detectada.



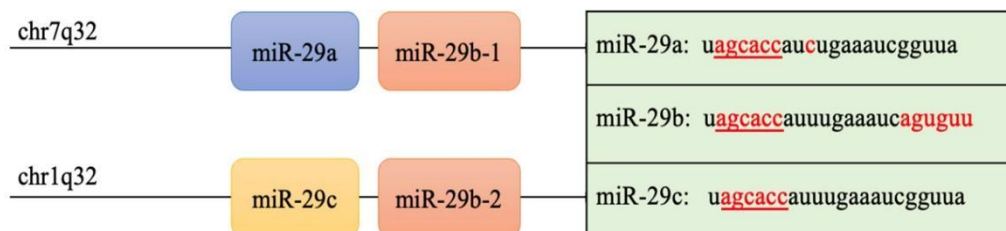
Isso indica que a hiperinsulinemia pode estar presente mesmo em condições normais de glicose, provavelmente causando alterações significativas no nível vascular, muito antes do diagnóstico de diabetes. A expressão e a função do miRNA podem ser alteradas muito antes do diagnóstico da hiperglicemia, causando importantes alterações no metabolismo desde o estágio inicial do diabetes (PETKOVIC, 2020).

Existem várias evidências que indicam que os miRNAs podem ter efeitos positivos ou negativos em diferentes aspectos do processo de cicatrização de feridas. (PATEL et al., 2019; DYKES; ROSS, 2022). De fato, diversos miRs estão desregulados durante as diferentes fases da cicatrização cutânea em diabéticos, alguns deles tendo como alvo componentes da MEC (HONDA et al., 2012; KASHYIAMA et al., 2012; MOURA; BØRSHEIM; CARVALHO, 2014). Liu et al., (2015) investigaram a expressão de miRNAs em roedores com diabetes e mostraram que 18 miRNAs foram regulados positivamente e 65 miRNAs foram regulados negativamente em comparação com grupos controles. Foi observada a expressão diferencial de 14 miRNAs durante a cicatrização em humanos diabéticos (MADHYASTHA et al., 2012).

A inibição do miR-92a por exemplo, foi capaz de acelerar a angiogênese e o processo cicatricial em diabéticos e não diabéticos (GALLANT-BEHN et al., 2018). Já o miR-21 está reduzido em úlceras diabéticas, causando redução na migração de fibroblastos e queratinócitos para o local da ferida (YANG et al., 2011).

### **1.7 Família dos MiRNAs 29**

A família miR-29 é composta por três elementos: miR-29a, miR-29b e miR-29c. Os miR-29b-1 e miR-29b-2 são chamados pelo mesmo título de miR-29b, com sequências maduras iguais. Os genes miR-29b2 e miR-29c estão localizados no cromossomo 1 (1q32.2) e os genes miR-29a e miR-29b1 estão localizados no cromossomo 7 (7q32.3) (KRIEGEL et al., 2012).



**Figura 3. Membros da família miR-29 e seus alvos potenciais.** Sequências maduras e localizações cromossômicas de miR-29s. Fonte: NGUYEN et al., 2022.

A revisão sistemática de Kwon et al., (2019) mostrou que a ampla maioria das publicações mostram os miRNAs da família 29 agindo como supressores de vários tipos de câncer. Entre esses, se destacam cânceres hematológicos, gastrointestinais e de mama. Os miRNAs 29 atuam em diversas funções celulares como no metabolismo oncogênico, proliferação celular, apoptose, fibrose, angiogênese, imunomodulação, transição epitélio-mesenquimal e metástase. Esses miRNAs também são biomarcadores de diversos tipos como câncer, como revisado por NGUYEN et al. (2022).

Os miRNAs da família 29 já foram demonstrados como reguladores chave de fibrose nos rins, coração, fígado, pulmão e pele (CUSHING et al., 2011; HE et al., 2013; McMULLEN; HARMANCI et al., 2017; MCMULLEN; BERNARDO, 2018). Em vários desses tecidos propensos à fibrose, esses miRNAs regulam uma série de funções celulares como apoptose, proliferação, diferenciação, produção e secreção de proteínas da MEC. Esses processos também estão presentes nas etapas da cicatrização de feridas, e isso aponta os miRNAs da família 29 como potenciais alvos na modulação da cicatrização de feridas, principalmente em suas fases finais. O miR-29b, por exemplo, é um potente repressor pós-transcricional de colágeno I em fibroblastos da pele, e sua desregulação pode estar implicada no processo cicatricial (HARMANCI et al., 2017). O miR-29b atua diretamente sobre a expressão de genes para MEC como fibronectina, colágenos I e III (LIU et al., 2010; CUSHING et al., 2011) e está reduzido em diabéticos durante a cicatrização (MOURA; BØRSHEIM; CARVALHO, 2014). A aplicação tópica deste miRNA aumentou a razão colágeno III/I e a atividade de MMP-8, favorecendo a progressão correta da cicatrização (MONAGHAN et al., 2014). Os miR-29b e o miR-29c foram sugeridos como mediadores-chave na mudança fenotípica na cicatrização

gestacional da ferida fetal e durante o desenvolvimento da pele (CHENG et al., 2010), em parte devido aos seus papéis na produção de MEC (VAN ROOIJ et al., 2008). Tanto o TGF- $\beta$ , que atua como anti-fibrótico na pele, quanto proteínas SMADs (sinalizadoras na via de TGF- $\beta$ ), envolvidas nas vias de cicatrização, são alvos de miR-29b e miR-29c (MULHOLLAND, DUNNE, McCARTHY 2017).

Estudos indicam que a regulação de miRNAs da família miR-29 (a, b, c) ocorre tanto pela glicose elevada quanto pelos níveis de insulina e citocinas inflamatórias em modelos de diabetes, relacionando-os com complicações variadas, como por exemplo a sobrevivência e função de cardiomiócitos (THOMAS et al., 2013; ARNOLD et al., 2014) e fibrose renal (KRIEGEL et al., 2012). Diversos estudos relataram aumento do miR-29 no DM (HE et al., 2007; ARNOLD et al., 2014; SLUSARZ; PULAKAT, 2014; VILLARD; MARCHAND, 2015). Em nosso grupo, observamos aumento do miR-29a em células do ligamento periodontal humano expostas à glicose elevada (MONTEIRO, 2017). Neste mesmo tecido, já foi demonstrado que miRNAs da família 29 regulam a síntese de MEC (CHEN et al., 2015).

A família de miRNAs 29 desempenha um papel crucial na inibição da migração em vários tipos de câncer como carcinoma epidermóide de cabeça e pescoço, adenocarcinoma, câncer pancreático e hepático. Foi mostrado que a redução desses miRNAs está associada a uma maior capacidade migratória e invasividade celular, enquanto o aumento da expressão destes miRNAs resultou na redução desses mecanismos (KINOSHITA et al., 2013; YAMAMOTO et al., 2013; LU et al., 2015; KOSHIZUKA et al., 2018; HOZAKA et al., 2021), tendo como alvos proteínas da MEC, HSP47 e subunidade  $\beta$ 1 de integrinas. Esses miRNAs, se aumentados em resposta à glicose elevada, podem estar relacionados com a menor migração dos fibroblastos.

Uma consulta à base de dados MiRNA.org ([www.microrna.org](http://www.microrna.org)) revelou alvos relacionados à migração celular e MEC para o miR-29a (colágenos II, III, IV, VI, VII, VIII, XVI, XIX, XXI, hialuronan sintase 2 e 3, fibronectina, fibrilina 2, TIMP2, MMP 2, integrinas  $\beta$ 1,  $\alpha$ 6 e  $\alpha$ 1, Rho BTB 1 e 3, Cdc42, WASP 1, radixina, Rac2, TIAM-1, ROCK-1, RhoA), miR-29b (colágenos I, III, IV, XV, fibronectina,

MMP2, hialuronan sintase 3, CD44, fibrilina 1, Rho A, PTEN, VEGF) e miR-29c (colágenos I, III, hialuronan sintase 3, integrinas  $\beta$ 1,  $\alpha$ 6 e  $\alpha$ 11).

De acordo com as informações apresentadas, consideramos relevante avaliar o potencial efeito da glicose elevada sobre a expressão de miRNAs da família 29 em fibroblastos dérmicos humanos, assim como seu papel na migração dessas células em matrizes de colágeno do tipo I, muito abundante na pele. Apesar dos efeitos da glicose elevada sobre a migração celular ser um tema de estudo do nosso grupo há alguns anos, células de diferentes origens podem responder de maneiras diferentes à glicose. Por esta razão, consideramos também importante caracterizar a migração destes fibroblastos em diferentes matrizes de colágeno.

## 6 CONCLUSÃO

De acordo com os objetivos propostos inicialmente e com base nos resultados obtidos, concluímos que:

- A concentração elevada de glicose (30 mM) reduz a migração de fibroblastos derivados da derme humana em matrizes constituídas por colágeno tipo I, na presença de estímulos quimiotáticos. Na migração espontânea dessas células, tanto em ambientes 2-D quanto 3-D, a velocidade e direcionalidade celulares não foram alteradas, apesar de um aumento da adesão celular ao colágeno I.
- A concentração elevada de glicose (30 mM) aumenta a expressão do microRNAs miR-29c-3p em fibroblastos derivados da derme humana, sem alterar a expressão de miR-29a-3p e miR-29b-3p.
- O miR-29c-3p reduz a migração direcional de fibroblastos derivados da derme humana em matrizes constituídas por colágeno tipo I, na presença de estímulos quimiotáticos. Na migração espontânea dessas células, tanto em ambientes 2-D quanto 3-D, a velocidade e direcionalidade celulares foram reduzidas pelo miR-29c-3p, acompanhadas de um aumento da adesão celular ao colágeno I e redução da expressão proteica da subunidade  $\beta 1$  de integrinas.
- É possível que os efeitos da glicose elevada sobre a migração de fibroblastos dérmicos humanos sejam, pelo menos parcialmente, devidos à elevação da expressão de miR-29c-3p.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR G; VILLELA N.R; BOUSKELA M. A Microcirculação no Diabetes: Implicações nas Complicações Crônicas e Tratamento da Doença. **Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia**, v.51, n.2, p. 204-211, Jan 2007.

ALMEIDA, M. E. S. et al. Hyperglycemia reduces integrin subunits alpha v and alpha 5 on the surface of dermal fibroblasts contributing to deficient migration. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 421, n. 1–2, p. 19–28, 2016.

ALMEIDA, M. Hiperglicemia e interação fibroblasto-matriz extracelular-influências na adesão e migração em substratos bidimensional e tridimensional. Dissertação de mestrado (Biologia Celular e Tecidual). Programa de Biologia Celular e Tecidual, Instituto de Ciências Biomédicas da USP. 2011

.

AL-RIKABI, A. H. A. et al. Dermal fibroblasts cultured from donors with type 2 diabetes mellitus retain an epigenetic memory associated with poor wound healing responses. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–13, 2021.

ARNOLD, N. et al. Regulation of cardiac expression of the diabetic marker microRNA miR-29. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, 2014.

AYEPOLA, O. R. et al. Kolaviron, a biflavonoid complex of *Garcinia kola* seeds modulates apoptosis by suppressing oxidative stress and inflammation in diabetes-induced nephrotoxic rats. **Phytomedicine**, v. 21, n. 14, p. 1785–1793, 2014.

BAEK, D. et al. The impact of microRNAs on protein output. *Nature*, v. 455, n. 7209, p. 64–71, 2008.

BARNETT, R. Type 1 diabetes. **The Lancet**, v. 391, n. 10117, p. 195, 2018.

BELLAMY, L. et al. Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet**, v. 373, n. 9677, p. 1773–1779, 2009.

BHATTI, G. K. et al. Metabolic syndrome and risk of major coronary events among the urban diabetic patients: North Indian Diabetes and Cardiovascular Disease Study - NIDCVD-2. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 30, n. 1, p. 72–78, 2016.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BROWNLEE, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. **Nature**, v. 414, n. 6865, p. 813-820, 2001.

BROWNLEE, M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. **Diabetes**, v. 54, n. 6, p. 1615–25, jun. 2005.

BURGESS, J. L. et al. Diabetic Wound-Healing Science. **Medicina**, v. 57, n. 10, p. 1072, 8 out. 2021.

CAI, Y. et al. A Brief Review on the Mechanisms of miRNA Regulation. **Genomics Proteomics Bioinformatics**, v. 7, n. 4, p. 147-154, 2009.

CALIN, G. A; CROCE, C. M. MicroRNA signatures in human cancers. **Nature reviews - cancer**, v. 6, p. 857-866, 2006.

CASKEY, R. C. et al. Dysregulation of collagen production in diabetes following recurrent skin injury: contribution to the development of a chronic wound. *Wound repair and regeneration* : official publication of the **Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society**, v. 22, n. 4, p. 515–20, 2014.

CEN, R. et al. Dermal Fibroblast Migration and Proliferation Upon Wounding or Lipopolysaccharide Exposure is Mediated by Stathmin. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, n. January, p. 1–14, 2022.

CHEN, L.; MAGLIANO, D. J.; ZIMMET, P. Z. The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus - Present and future perspectives. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 8, n. 4, p. 228–236, 2012.

CHEN, Y. et al. Cyclic stretch and compression forces alter microRNA-29 expression of human periodontal ligament cells. **Gene**, v. 566, n. 1, p. 13–17, 2015.

CHENG, J. et al. MicroRNA profiling in mid- and late-gestational fetal skin: implication for scarless wound healing. **The Tohoku journal of experimental medicine**, v. 221, n. 3, p. 203–209, 2010.

CHIARELLI F.: SANTILLI F.: MOHN A. Role of growth factors in the development of diabetic complications. *Hormone Research*, v. 53, 08 set. 2000.

CHO, N. H. et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 138, p. 271–281, fev. 2018

CIVITARESE, R. A. et al. The  $\alpha$ 11 integrin mediates fibroblast–extracellular matrix–cardiomyocyte interactions in health and disease. **American Journal of**



**Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 311, n. 1, p. H96–H106, 2016.

CONWAY, J. R. W.; JACQUEMET, G. Cell matrix adhesion in cell migration. **Essays in Biochemistry**, v. 63, n. 5, p. 535–551, 2019.

CORRAO, S. et al. Type 2 Diabetes Mellitus and COVID-19: A Narrative Review. **Frontiers in Endocrinology**, v. 12, 31 mar. 2021.

CUKIERMAN, E.; PANKOV, R.; YAMADA, K. M. Cell interactions with three-dimensional matrices. v. 13, p. 633–639, 2002.

CUSHING L. et al. Mir-29 is a major regulator of genes associated with pulmonary fibrosis. **Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.** V. 45, p. 287–294, 2011.

DOYLE, A. D. et al. Local 3D matrix microenvironment regulates cell migration through spatiotemporal dynamics of contractility-dependent adhesions. **Nature Communications**, v. 6, p. 8720, 2015.

DOYLE, A. D.; NAZARI, S. S.; YAMADA, K. M. Cell–extracellular matrix dynamics. **Physical Biology**, v. 19, n. 2, p. 021002, 1 mar. 2022.

DYKES, I.; ROSS, K. LJMU Research Online Biomolecular Research Reports Restoring the Final Frontier: Exosomal MicroRNA and Cutaneous Wound Repair. 2022.

EBADI, Z. et al. Captopril and Spironolactone Can Attenuate Diabetic Nephropathy in Wistar Rats by Targeting microRNA-192 and microRNA-29a/b/c. **DNA and Cell Biology**, v. 38, n. 10, p. 1–9, 2019.

EDITORIAL, C. Diretrizes da sociedade brasileira de diabetes. **Alamedas**, v. 9, n. 1, p. 215–217, 18 fev. 2021.

ESQUELA-KERSCHER, A.; SLACK, F. J. Oncomirs - MicroRNAs with a role in cancer. **Nature Reviews Cancer**, v. 6, n. 4, p. 259–269, 2006.

EVANS, J. M. M. et al. Socio-economic status, obesity and prevalence of Type 1 and Type 2 diabetes mellitus. **Diabetic Medicine**, v. 17, n. 6, p. 478–480, jun. 2000.

FAN, Y. C. et al. MiR-29c inhibits glioma cell proliferation, migration, invasion and angiogenesis. **Journal of Neuro-Oncology**, v. 115, n. 2, p. 179–188, 2013.

FLORIM, J. Emprego de nanopartículas lipídicas sólidas contendo extrato de semente de uvas para aceleração da cicatrização de feridas cutâneas em camundongos diabéticos. Dissertação de mestrado (Biologia Celular e Tecidual). Programa de Biologia Celular e Tecidual, Instituto de Ciências Biomédicas da USP. 2013.

FRIEDMAN, R. C. et al. Most mammalian RNAs are conserved targets of microRNAs. **Genome Research**, v. 19, n. 1, p. 92–105, 2009.

FUJIMURA, T. et al. Crucial role of fibroblast integrins  $\alpha 2$  and  $\beta 1$  in maintaining the structural and mechanical properties of the skin. **Journal of Dermatological Science**, v. 45, n. 1, p. 45–53, 2007.

GALLANT-BEHM, C. L. et al. A synthetic microRNA-92a inhibitor (MRG-110) accelerates angiogenesis and wound healing in diabetic and nondiabetic wounds. **Wound Repair and Regeneration**, v. 26, n. 4, p. 311–323, 2018.

GARDNER, H. et al. Absence of integrin  $\alpha 1\beta 1$  in the mouse causes loss of feedback regulation of collagen synthesis in normal and wounded dermis. **Journal of Cell Science**, v. 112, n. 3, p. 263–272, 1999.

GOMES, C. Efeitos da elevada concentração de glicose sobre a expressão de MIR-31 em fibroblastos. Dissertação de mestrado (Biologia Celular e Tecidual). Programa de Biologia Celular e Tecidual, Instituto de Ciências Biomédicas da USP. 2015.

GOMES, C. Efeitos da expressão de microRNA-31 induzida por concentração elevada de glicose sobre a migração e adesão de fibroblastos. Tese de doutorado (Biologia Celular, Tecidual e do Desenvolvimento). Programa de Biologia de Sistemas, Instituto de Ciências Biomédicas da USP. 2021.

GOODARZI, G.; MANIATI, M.; QUJEQ, D. The role of microRNAs in the healing of diabetic ulcers. **International Wound Journal**, v. 16, n. 3, p. 621–633, 2019.  
GREENHALGH, D. G. Wound healing and diabetes mellitus. **Clinics in Plastic Surgery**, v. 30, n. 1, p. 37–45, 2003.

GRIFFITH, L. G.; SWARTZ, M. A. Capturing complex 3D tissue physiology in vitro. **Nature reviews. Molecular cell biology**, v. 7, n. 3, p. 211–24, mar. 2006.

GRINNELL, F. Fibroblast biology in three-dimensional collagen matrices. **Trends in Cell Biology**, v. 13, n. 5, p. 264–269, 2003.

GUILLON, C. et al. Glycation by glyoxal leads to profound changes in the behavior of dermal fibroblasts. **BMJ Open Diabetes Research and Care**, v. 9, n. 1, p. 1–11, 2021.

HA H, LEE HB. (2003). Reactive oxygen species and matrix remodeling in diabetic kidney. **J Am Soc Nephrol** 14(8 Suppl 3):S246-S249.

HA, H.; LEE, H. B. Reactive oxygen species amplify glucose signalling in renal cells cultured under high glucose and in diabetic kidney. **Nephrology** (Carlton, Vic.), v. 10 Suppl, p. S7-10, out. 2005.

HAN, S. Y. et al. High glucose and angiotensin II increase  $\beta$ 1 integrin and integrin-linked kinase synthesis in cultured mouse podocytes. **Cell and Tissue Research**, v. 323, n. 2, p. 321–332, 2006.

HARMANCI, D. et al. Role of the microRNA-29 family in fibrotic skin diseases (Review). **Biomedical Reports**, p. 599–604, 2017.

HE, A. et al. Overexpression of micro ribonucleic acid 29, highly up-regulated in diabetic rats, leads to insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes. **Molecular Endocrinology**, v. 21, n. 11, p. 2785–2794, 2007.

HE, Y. et al. MicroRNA-29 family, a crucial therapeutic target for fibrosis diseases. **Biochimie**, v. 95, n. 7, p. 1355–1359, 2013.

HODGE, R. G.; RIDLEY, A. J. Regulating Rho GTPases and their regulators. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 17, n. 8, p. 496–510, 2016.

HONDA, N. et al. TGF- $\beta$ -mediated downregulation of microRNA-196a contributes to the constitutive upregulated type I collagen expression in scleroderma dermal fibroblasts. **J. Immunol**, v. 188, p. 3323–3331, 2012.

HORWITZ, R; WEBB, D. Cell migration. **Curr Biol** v. 13, p. R756-R759, 2003.

HOZAKA, Y. et al. Molecular pathogenesis and regulation of the mir-29-3p-family: Involvement of itga6 and itgb1 in intra-hepatic cholangiocarcinoma. **Cancers**, v. 13, n. 11, 2021.

HUANG, S; HE, X. microRNAs: tiny RNA molecules, huge driving forces to move the cell. **Protein Cell**, v. 1, n. 10, p. 916–926, 2010.

HUNTZINGER, E.; IZAURRALDE, E. Gene silencing by microRNAs: Contributions of translational repression and RNAm decay. **Nature Reviews Genetics**, v. 12, n. 2, p. 99–110, 2011.

IGHODARO, O. M. Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, v. 108, n. September, p. 656–662, 2018.

IPSARO, J. J.; JOSHUA-TOR, L. From guide to target: Molecular insights into eukaryotic RNA-interference machinery. **Nature Structural and Molecular Biology**, v. 22, n. 1, p. 20–28, 2015.

KASHIYAMA, K. et al. MiR-196a downregulation increases the expression of type I and III collagens in keloid fibroblasts. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 132, n. 6, p. 1597–1604, 2012.

KATSAROU, A. et al. Type 1 diabetes mellitus. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, p. 1–18, 2017.

KEENAN, T. M.; FOLCH, A. Biomolecular gradients in cell culture systems. **Lab on a Chip**, v. 8, n. 1, p. 34–57, 2007.

KETTING, R. F. et al. Dicer functions in RNA interference and in synthesis of small RNA involved in developmental timing in *C. elegans*. **Genes and Development**, v. 15, n. 20, p. 2654–2659, 2001.

KHALID, M.; PETROIANU, G.; ADEM, A. Advanced Glycation End Products and Diabetes Mellitus: **Mechanisms and Perspectives****Biomolecules**, 2022.

KINOSHITA, T. et al. Tumour-suppressive microRNA-29s inhibit cancer cell migration and invasion by targeting laminin-integrin signalling in head and neck squamous cell carcinoma. **British Journal of Cancer**, v. 109, n. 10, p. 2636–2645, 2013.

KITSIOU, P. V. et al. Glucose-induced changes in integrins and matrix-related functions in cultured human glomerular epithelial cells. **American Journal of Physiology - Renal Physiology**, v. 284, n. 4 53-4, p. 671–679, 2003.

KOMSA-PENKOVA, R.; SPIROVA, R.; BECHEV, B. Modification of Lowry's method for collagen concentration measurement. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, v. 32, n. 1, p. 33–43, 1996.

KOSHIZUKA, K. et al. Inhibition of integrin  $\beta$ 1-mediated oncogenic signalling by the antitumor microRNA-29 family in head and neck squamous cell carcinoma. **Oncotarget**, v. 9, n. 3, p. 3663–3676, 2018.

KOUNTOURI, A. et al. Type 1 diabetes mellitus in the SARS-CoV-2 pandemic: Oxidative stress as a major pathophysiological mechanism linked to adverse clinical outcomes. **Antioxidants**, v. 10, n. 5, p. 1–20, 2021.

KRIEGEL, A. J. et al. The miR-29 family: Genomics, cell biology, and relevance to renal and cardiovascular injury. **Physiological Genomics**, v. 44, n. 4, p. 237–244, 2012.

KUNKEMOELLER, B.; KYRIAKIDES, T. Redox signaling in diabetic wound healing regulates extracellular matrix deposition. **Antioxidants & Redox Signaling**, n. 203, p. ars.2017.7263, 2017.

KWAK, Y. et al. Increase of stiffness in plantar fat tissue in diabetic patients. *Journal of Biomechanics*, v. 107, p. 109857, 2020.

KWON, J. J. et al. A Systematic Review of miR-29 in Cancer. **Molecular Therapy - Oncolytics**, v. 12, n. March, p. 173–194, 2019.

LAMERS. M. L. et al. High glucose-mediated oxidative stress impairs cell migration. **PLoS ONE**. v. 6, n. 8, p. e22865, 2011.

LANGHOLZ, O. et al. Collagen and collagenase gene expression in three-dimensional collagen lattices are differentially regulated by  $\alpha1\beta1$  and  $\alpha2\beta1$  integrins. **Journal of Cell Biology**, v. 131, n. 6 II, p. 1903–1915, 1995.

LECHNER, A. et al. Comparing skin characteristics and molecular markers of xerotic foot skin between diabetic and non-diabetic subjects: An exploratory study. **Journal of Tissue Viability**, v. 28, n. 4, p. 200–209, 2019.

LEE HB, YU MR, YANG Y, JIANG Z, HA H. (2003). Reactive oxygen species-regulated signaling pathways in diabetic nephropathy. **J Am Soc Nephrol** 14(8 Suppl 3):S241-S245.

LERMAN, O. Z et al Cellular dysfunction in the diabetic fibroblast: impairment in migration, vascular endothelial growth factor production, and response to hypoxia. **Am. J. of Pathol.** v.162, n. 1, p. 303–312, 2003.

LI, Z. et al. Spironolactone inhibits podocyte motility via decreasing integrin  $\beta1$  and increasing integrin  $\beta3$  in podocytes under high-glucose conditions. **Molecular Medicine Reports**, v. 12, n. 5, p. 6849–6854, 2015.

LIU, N. et al. MiR-29c suppresses invasion and metastasis by targeting TIAM1 in nasopharyngeal carcinoma. **Cancer Letters**, v. 329, n. 2, p. 181–188, 2013.

LIU, S. et al. Expression of integrin  $\beta 1$  by fibroblasts is required for tissue repair in vivo. **Journal of Cell Science**, v. 123, n. 21, p. 3674–3682, 2010.

LIU, S.; LEASK, A. Integrin  $\beta 1$  is required for dermal homeostasis. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 133, n. 4, p. 899–906, 2013.

LIU, Y. et al. Renal medullary microRNAs in dahl salt-sensitive rats: Mir-29b regulates several collagens and related genes. **Hypertension** v. 55 p. 974–982, 2010.

LIU, Y. F. et al. MicroRNA profiling in cutaneous wounds of diabetic rats. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 3, p. 9614–9625, 2015.

LOOTS, M. A. M. et al. Fibroblasts derived from chronic diabetic ulcers differ in their response to stimulation with EGF , IGF-I , bFGF and PDGF-AB compared to controls. **European Journal of Cell Biology**, v. 160, p. 153–160, 2002.

LOOTS, M. A. M. et al. Cultured fibroblasts from chronic diabetic wounds on the lower extremity (non-insulin-dependent diabetes mellitus) show disturbed proliferation. **Archives of Dermatological Research**, v. 291, n. 2–3, p. 93–99, 4 mar. 1999.

LOUGHLIN, D. T.; ARTLETT, C. M. Precursor of advanced glycation end products mediates ER-stress-induced caspase-3 activation of human dermal fibroblasts through NAD(P)H oxidase 4. **PloS one**, v. 5, n. 6, p. e11093, jan. 2010.

LU, Y. et al. MiR-29c inhibits cell growth, invasion, and migration of pancreatic cancer by targeting ITGB1. **OncoTargets and Therapy**, v. 9, p. 99–109, 2015.



LUND, E. et al. Nuclear Export of MicroRNA Precursors. **Science**, v. 303, n. 5654, p. 95–98, 2004.

MADHYASTHA, R. et al. MicroRNA signature in diabetic wound healing: promotive role of miR-21 in fibroblast migration. **Intern. W. J**, v. 9, n. 4, p. 355–361, 2012.

MASON, R. M.; WAHAB, N. A. Extracellular Matrix Metabolism in Diabetic Nephropathy. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 14, n. 5, p. 1358–1373, 1 maio 2003.

MASSART, J. et al. Altered miR-29 expression in type 2 diabetes influences glucose and lipid metabolism in skeletal muscle. **Diabetes**, v. 66, n. 7, p. 1807–1818, 2017.

MCMULLEN, J. R.; BERNARDO, B. C. Inhibition of miR-29 protects against cardiac hypertrophy and fibrosis: new insight for the role of miR-29 in the heart. **Non-coding RNA Investigation**, v. 2, n. April, p. 14–14, 2018.

MENG, Z. et al. miRNA delivery for skin wound healing. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 129, p. 308–318, 2018.

MILAN, P. B. et al. Accelerated wound healing in a diabetic rat model using decellularized dermal matrix and human umbilical cord perivascular cells. **Acta Biomaterialia**, v. 45, p. 234–246, 2016.

MILLER, C. G. et al. Effects of high glucose on integrin activity and fibronectin matrix assembly by mesangial cells. **Molecular Biology of the Cell**, v. 25, n. 16, p. 2342–2350, 2014.

MOHSEN, L. et al. Role of mean platelet volume and ischemia modified albumin in evaluation of oxidative stress and its association with postnatal complications in infants of diabetic mothers. **Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine**, v. 31, n. 14, p. 1819–1823, 2018.

MONAGHAN, M. et al. A collagen-based scaffold delivering exogenous microRNA-29b to modulate extracellular matrix remodeling. **Mol. Ther**, v. 22, p. 786–796, 2014.

MONTEIRO, K. S. efeitos da elevada concentração de glicose sobre a reciclagem de integrinas contendo a subunidade  $\beta 1$  em fibroblastos. 2014. 68 f. Dissertação Mestrado em Biologia Celular e Tecidual) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

MONTEIRO, M. M. Efeitos da elevada concentração de glicose sobre fibroblastos periodontais humanos - potencial regulação por microRNAs 221 e 222. 2017. 95 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Tecidual). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

MOURA, J; BØRSHEIM, E; CARVALHO, E. The Role of MicroRNAs in Diabetic Complications—Special Emphasis on Wound Healing. **Genes** v. 5, p. 926-956, 2014.

MULHOLLAND, E. J.; DUNNE, N.; MCCARTHY, H. O. MicroRNA as Therapeutic Targets for Chronic Wound Healing. **Molecular Therapy - Nucleic Acids**, v. 8, n. September, p. 46–55, 2017.

NGUYEN, T. T. P. et al. The Role of miR-29s in Human Cancers — An Update. p. 1–17, 2022.

NISHIKAWA, R. et al. Tumor-suppressive microRNA-29s inhibit cancer cell migration and invasion via targeting LAMC1 in prostate cancer. **International Journal of Oncology**, v. 45, n. 1, p. 401–410, 2014.

NOOR, S.; KHAN, R. U.; AHMAD, J. Understanding Diabetic Foot Infection and its Management. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews*, v. 11, n. 2, p. 149–156, 2017.

NOTTROTT, S.; SIMARD, M. J.; RICHTER, J. D. Human let-7a miRNA blocks protein production on actively translating polyribosomes. *Nature Structural and Molecular Biology*, v. 13, n. 12, p. 1108–1114, 2006.

OLSSON, A. H. et al. The expression of myosin heavy chain (MHC) genes in human skeletal muscle is related to metabolic characteristics involved in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Molecular Genetics and Metabolism*, v. 103, n. 3, p. 275–281, 2011.

OLSSON, M. et al. The humanistic and economic burden of chronic wounds: A systematic review. *Wound Repair and Regeneration*, v. 27, n. 1, p. 114–125, 2019.

Organização mundial da saúde (OMS) [https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1). Consultado em 02.11.2022

PACHER, P.; BECKMAN, J.; LIAUDET, L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological reviews*, p. 315–424, 2007.

PAGEON, H. et al. Biological Effects Induced by Specific Advanced Glycation End Products in the Reconstructed Skin Model of Aging. *BioResearch Open Access*, v. 4, n. 1, p. 54–64, 2015.

PARK, J. W. Influence of Diabetes Mellitus on the Biomechanical Properties of the Human Skin as Measured Using the Cutometer: A Case-Control Study. *Soonchunhyang Medical Science*, v. 23, n. 2, p. 97–103, 2017.

PARSONS, J. T.; HORWITZ, A. R.; SCHWARTZ, M. A. Cell adhesion: Integrating cytoskeletal dynamics and cellular tension. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 11, n. 9, p. 633–643, 2010.

PATEL, S. et al. Mechanistic insight into diabetic wounds: Pathogenesis, molecular targets and treatment strategies to pace wound healing. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 112, n. January, p. 108615, 2019.

PAWLUCHIN, A.; GALIC, M. Moving through a changing world: Single cell migration in 2D vs. 3D. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 10, n. December, p. 1–14, 2022.

PETKOVIC, M. et al. Mechanistic Actions of microRNAs in Diabetic Wound Healing. **Cells**, v. 9, n. 10, 2020.

PILLAI, R. S. et al. Molecular biology: Inhibition of translational initiation by let-7 microRNA in human cells. **Science**, v. 309, n. 5740, p. 1573–1576, 2005.

PRATT, A. J.; MACRAE, I. J. The RNA-induced silencing complex: A versatile gene-silencing machine. **Journal of Biological Chemistry**, v. 284, n. 27, p. 17897–17901, 2009.

RODRIGUEZ, A. et al. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units. **Genome Research**, v. 14, n. 10 A, p. 1902–1910, 2004.

ROMAINE, A. et al. Overexpression of integrin  $\alpha 11$  induces cardiac fibrosis in mice. **Acta Physiologica**, v. 222, n. 2, p. 1–17, 2018.

SAKURAI, T.; TSUCHIYA, S. Superoxide production from nonenzymatically glycosylated protein. **FEBS Letters**, v. 236, n. 2, p. 406–410, 1988.

SANTOS, D. A. Efeitos da elevada concentração de glicose sobre o retículo endoplasmático em fibroblastos. Dissertação de Mestrado (Biologia Celular e Tecidual). Programa de Biologia Celular e Tecidual, Instituto de Ciências Biomédicas da USP. 2015.

SCHULZ, J.-N. et al. Reduced Granulation Tissue and Wound Strength in the Absence of  $\alpha 11\beta 1$  Integrin. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 135, n. 5, p. 1435–1444, maio 2015.

SEN, C. K. Human Wounds and Its Burden: An Updated Compendium of Estimates. **Advances in Wound Care**, v. 8, n. 2, p. 39–48, 2019.

SINGH, K. et al. Association of toll-like receptor 4 polymorphisms with diabetic foot ulcers and application of artificial neural network in DFU risk assessment in type 2 diabetes patients. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.

SINGH, K. et al. Decreased expression of heat shock proteins may lead to compromised wound healing in type 2 diabetes mellitus patients. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 29, n. 4, p. 578–588, 2015.

SINGH, S.; YOUNG, A.; MCNAUGHT, C. E. The physiology of wound healing. **Surgery** (United Kingdom), v. 35, n. 9, p. 473–477, 2017.

ŚLUSARZ, A.; PULAKAT, L. The two faces of miR-29. **Journal of cardiovascular medicine** (Hagerstown, Md.), v. 16, n. 7, p. 480–90, 2015.

SOLIMAN, A. M. et al. Role of MicroRNA in proliferation phase of wound healing. **Frontiers in Genetics**, v. 9, n. FEB, p. 1–12, 2018.

SONG, F. C. et al. High glucose represses the proliferation of tendon fibroblasts by inhibiting autophagy activation in tendon injury. **Bioscience Reports**, v. 42, n. 3, p. 1–9, 2022.

SZULGIT, G. et al. Alterations in fibroblast  $\alpha1\beta1$  integrin collagen receptor expression in keloids and hypertrophic scars. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 118, n. 3, p. 409–415, 2002.

THOMAS, R. L. et al. Loss of MCL-1 leads to impaired autophagy and rapid development of heart failure. **Genes and Development**, v. 27, n. 12, p. 1365–1377, 2013.

TSILIBARY, E. C. Microvascular basement membranes in diabetes mellitus. **The Journal of pathology**, v. 200, n. 4, p. 537–46, jul. 2003.

VAN ROOIJ, E. et al. Dysregulation of microRNAs after myocardial infarction reveals a role of miR-29 in cardiac fibrosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 35, p. 13027–13032, 2008.

VILLARD, A.; MARCHAND, L. Diagnostic Value of Cell-free Circulating Micrnas for Obesity and Type 2 Diabetes: A Meta-analysis. **Journal of Molecular Biomarkers & Diagnosis**, v. 06, n. 06, p. 1–21, 2015.

WANG, A. et al. Heparin prevents intracellular hyaluronan synthesis and autophagy responses in hyperglycemic dividing mesangial cells and activates synthesis of an extensive extracellular monocyte-adhesive hyaluronan matrix

after completing cell division. **Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 13, p. 9418–9429, 2014.

WANG, H. et al. miRNA-29c Suppresses Lung Cancer Cell Adhesion to Extracellular Matrix and Metastasis by Targeting Integrin  $\beta$ 1 and Matrix Metalloproteinase2 (MMP2). **PLoS ONE**, v. 8, n. 8, 2013.

WANG, J.; CHEN, J.; SEN, S. MicroRNA as Biomarkers and Diagnostics. *Journal of Cellular Physiology*, v. 231, n. 1, p. 25–30, 2016.

WANG, Z.; LEISNER, T. M.; PARISE, L. V. Platelet  $\alpha$ 2 $\beta$ 1 integrin activation: Contribution of ligand internalization and the  $\alpha$ 2-cytoplasmic domain. **Blood**, v. 102, n. 4, p. 1307–1315, 2003.

WIGHTMAN, B.; HA, I.; RUVKUN, G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. **Cell**, v. 75, n. 5, p. 855–862, 1993.

WU, P. H.; GILKES, D. M.; WIRTZ, D. The Biophysics of 3D Cell Migration. **Annual Review of Biophysics**, v. 47, p. 549–567, 2018.

XU, J. et al. Mesenchymal stem cells correct impaired diabetic wound healing by decreasing ECM proteolysis. **Physiological Genomics**, v. 49, n. 10, p. 541–548, 2017.

XUAN, Y. H. et al. High-glucose inhibits human fibroblast cell migration in wound healing via repression of bFGF-regulating JNK phosphorylation. **PLoS ONE**, v. 9, n. 9, 2014.

YAMADA, K. M.; DOYLE, A. D.; LU, J. Cell–3D matrix interactions: recent advances and opportunities. **Trends in Cell Biology**, v. 32, n. 10, p. 883–895, 2022.

YAMADA, K. M.; SIXT, M. Mechanisms of 3D cell migration. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 20, n. 12, p. 738–752, 2019.

YAMAMOTO, N. et al. Tumor-suppressive microRNA-29a inhibits cancer cell migration and invasion via targeting HSP47 in cervical squamous cell carcinoma. **International Journal of Oncology**, v. 43, n. 6, p. 1855–1863, 2013.

YANAIHARA, N. et al. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. **Cancer cell**, v. 9, n. 3, p. 189–98, mar. 2006.

YANG, F. et al. Identification of miRNAs-genes regulatory network in diabetic nephropathy based on bioinformatics analysis. **Medicine**, v. 98, n. 27, p. e16225, jul. 2019.

YANG, Y. et al. Promotion of skin regeneration in diabetic rats by electrospun core-sheath fibers loaded with basic fibroblast growth factor. **Biomaterials**, v. 32, n. 18, p. 4243–54, jun. 2011.

YU, X. M. et al. Increased expression of vascular endothelial growth factor C in papillary thyroid carcinoma correlates with cervical lymph node metastases. **Clin Cancer Res**, v. 11, n. 22, p. 8063-8069, 2005.

ZAMAN, M. H et al. Migration of tumor cells in 3D matrices is governed by matrix stiffness along with cell-matrix adhesion and proteolysis. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 103, n. 29, p. 10889-94, 2006.



ZHANG, X. et al. Effects of elevated glucose levels on interactions of cardiac fibroblasts with the extracellular matrix. **In Vitro Cellular and Developmental Biology - Animal**, v. 43, n. 8–9, p. 297–305, 2007.

ZHANG, Z. G. et al. Interactions of primary fibroblasts and keratinocytes with extracellular matrix proteins: Contribution of  $\alpha 2\beta 1$  integrin. **Journal of Cell Science**, v. 119, n. 9, p. 1886–1895, 2006.

ZHU, R.; LIU, C.; GUNDERSEN, G. G. Nuclear positioning in migrating fibroblasts. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 82, p. 41–50, 2018.

ZOU, M. L. et al. Fibroblasts: Heterogeneous Cells With Potential in Regenerative Therapy for Scarless Wound Healing. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 9, n. July, p. 1–9, 2021.

ZWEERS, M. C. et al. Integrin  $\alpha 2\beta 1$  is required for regulation of murine wound angiogenesis but is dispensable for reepithelialization. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 127, n. 2, p. 467–478, 2007.