



# MicroRNA circolanti come biomarcatori per il diabete mellito di tipo 2: avanzamenti e prospettive future

Giuseppina Emanuela Grieco<sup>1,2</sup> · Daniela Fignani<sup>1,2</sup> · Francesco Dotta<sup>1,2,3</sup> · Guido Sebastiani<sup>1,2</sup>

Accettato: 15 marzo 2022 / Pubblicato online: 21 settembre 2022  
© The Author(s) 2022

## Sommario

Il diabete mellito di tipo 2 (DMT2) è una malattia metabolica cronica eterogenea in costante aumento. In questa rassegna, al fine di identificare un gruppo di microRNA (miRNA) con potenziale applicazione in clinica come biomarcatori per la diagnosi, prognosi e selezione di terapie personalizzate per i pazienti con DMT2, abbiamo effettuato una ricerca sistematica di letteratura, identificando e selezionando 10 miRNA (miR-126-3p, miR-223-3p, miR-21-5p, miR-15a-5p, miR-24-3p, miR-34a-5p, miR-146a-5p, miR-148a-3p, miR-30d-5p e miR-30c-5p).

**Parole chiave** Diabete Mellito di tipo 2 · microRNA circolanti · Biomarcatori · Biopsia liquida · Multi-omica

## Medicina di precisione e diabete mellito di tipo 2: nuovi approcci analitici

Il diabete mellito di tipo 2 (DMT2) è la forma più comune di diabete (90–95% di tutti i casi) ed è caratterizzato da iperglicemia cronica principalmente causata da una combinazione di insulino-resistenza periferica e disfunzione  $\beta$ -cellulare. Fattori di rischio ambientali come obesità, inattività fisica e abitudini alimentari scorrette, oltre alla suscettibilità genetica, contribuiscono allo sviluppo e alla progressione della malattia. L'interazione di molteplici fattori stressogeni come ipossia, glucotossicità, lipotossicità e/o inquinanti ambientali possono provocare disfunzione o morte  $\beta$ -cellulare. Oltre a questi, anche altri fattori possono determinare l'inizio e la progressione del DMT2; tra questi fattori troviamo l'infiammazione mediata dagli adipociti nel fegato e nel muscolo scheletrico, la neuro-infiammazione e difetti nella secrezione di incretine. La complessità multifattoriale del

DMT2 rende tale malattia molto eterogenea in termini di gravità, età di esordio e presenza di complicanze a lungo termine. Questa marcata eterogeneità rappresenta un ostacolo importante nella diagnosi, nella prognosi e nel trattamento del DMT2. Pertanto, una più accurata stratificazione dei pazienti, basata su molteplici marcatori clinici e molecolari, è fondamentale al fine di migliorare la gestione clinica della malattia attraverso un approccio di medicina di precisione. Diversi studi hanno recentemente iniziato ad applicare strategie di stratificazione volte a identificare sottogruppi di pazienti con DMT2 sulla base di parametri clinici e/o marcatori biochimici/molecolari. Ad esempio, considerando il solido contributo del *background* genetico allo sviluppo del DMT2, Boecker e collaboratori hanno esaminato l'efficacia della stratificazione dei pazienti valutando il punteggio di rischio poligenico (*polygenic risk scores*: PRS) [1]. In questo caso, la stratificazione dei pazienti in base al rischio poligenico mira a prevedere con precisione la probabilità di sviluppare DMT2 sulla base di specifici polimorfismi a singolo nucleotide (SNP). Gli SNP vengono prima identificati attraverso studi di *Genome-Wide Association* (GWA) e successivamente inclusi nel punteggio PRS. Inoltre, al fine di ottenere una maggiore efficacia per prevedere lo sviluppo del DMT2, il PRS può essere implementato con informazioni cliniche (età, BMI, abitudini di fumo, sesso).

In un altro studio, Udler e colleghi, effettuando un'analisi di *soft-clustering*, considerando 94 varianti genetiche indipendenti e 47 correlate al diabete e rilevate da più studi di GWAS, hanno identificato cinque robusti *cluster* di loci

Proposto da Teresa Mezza.

✉ G. Sebastiani  
guido.sebastiani@unisi.it

- <sup>1</sup> Unità di Ricerca Diabetologica, Dipartimento di Scienze Mediche Chirurgiche e Neuroscienze, Università di Siena, Siena, Italia
- <sup>2</sup> Fondazione Umberto Di Mario, c/o Toscana Life Sciences, Siena, Italia
- <sup>3</sup> Centro Regionale Toscano per la Medicina di Precisione (CReMeP), Siena, Italia

genici implicati nel DMT2, alcuni dei quali erano associati a caratteristiche cliniche (es. misure della funzione delle  $\beta$ -cellule) e biochimiche (es. proinsulina sierica) [2].

Un altro approccio consiste nel valutare diversi parametri clinici, biochimici e molecolari per stratificare i pazienti. In questo caso, Ahlqvist e colleghi hanno utilizzato sei diversi parametri clinici per stratificare i pazienti con DMT2 in base alla positività agli autoanticorpi anti-glutammato decarbossilasi (GADA AAb), età alla diagnosi, BMI, HbA1c e valutazione del modello omeostatico 2 (HOMA2) per la stima della funzione delle  $\beta$ -cellule (HOMA2-B) e dell'insulino-resistenza (HOMA2-IR) [3, 4]. Utilizzando questo approccio, gli autori hanno identificato cinque gruppi di pazienti che mostrano caratteristiche diverse: DMT2 con autoimmunità, con grave carenza di insulina, con grave insulino-resistenza, DMT2 a lieve entità obesità-correlato e DMT2 a lieve entità età-correlato. I pazienti che presentavano positività ad autoanticorpi anti-GAD65 hanno mostrato una malattia ad esordio precoce, BMI basso, scarso controllo metabolico, carenza di insulina. I pazienti con carenza di insulina grave erano GADA negativi, ma simili al gruppo DMT2 autoimmune e presentavano una minore età all'esordio, BMI basso, bassa secrezione di insulina (basso indice HOMA2-B) e scarso controllo metabolico. Il gruppo DMT2 con elevata insulino-resistenza (alto indice HOMA2-IR) era caratterizzato anche da BMI elevato, mentre il *cluster* relativo a DMT2 lieve entità e obesità-correlato era caratterizzato da obesità ma non da insulino-resistenza. Infine, il gruppo di pazienti con DMT2 a lieve entità ed età-correlato includeva pazienti più anziani rispetto agli altri gruppi. Utilizzando un approccio identico, uno studio successivo ha identificato gli stessi sottogruppi di pazienti con DMT2, convalidando così i risultati precedenti e confermando l'efficacia dell'analisi di *clustering*. La classificazione dei *cluster* è applicabile anche alla predizione dell'insorgenza del DMT2, sulla base di una specifica combinazione di biomarcatori tra cui: sensibilità all'insulina e velocità di secrezione, volume di grasso viscerale e sottocutaneo e PRS [5].

Un altro approccio applicato da Khoshnejat e collaboratori, che prevede l'analisi dei dati di espressione genica dei tessuti periferici, è stato in grado di distinguere i pazienti DMT2 da soggetti non diabetici attraverso l'espressione combinata di 26 *pattern* genetici muscolari, consentendo, inoltre, l'identificazione di tre sottogruppi di pazienti con DMT2 [6].

Il rapido sviluppo di piattaforme -omiche avanzate (genomica, proteomica, trascrittomica, small RNAomica, ecc.) e la creazione di consorzi multicentrici, hanno favorito l'adozione di approcci multi-omici per identificare una potenziale combinazione di parametri molecolari e clinici per stratificare pazienti insulino-resistenti o con DMT2. Ad esempio, Huang e colleghi hanno adottato un approccio

multi-omico basato su caratteristiche cliniche, analisi di proteomica, profilo delle citochine, microbioma e sequenziamento di RNA al fine di identificare 17 parametri in grado di distinguere i soggetti insulino-resistenti da quelli insulino-sensibili. Infine, un recente studio di Wesolowska-Andersen e collaboratori ha valutato le caratteristiche cliniche, biochimiche e antropometriche al basale in soggetti con DMT2 di recente insorgenza seguiti per 36 mesi. Utilizzando una strategia di *soft-clustering*, gli autori hanno identificato quattro diversi archetipi di progressione del DMT2; di cui uno associato a obesità, insulino-resistenza e ridotta sensibilità al glucosio delle  $\beta$ , dopo beta cellule e presentava il profilo con una più rapida progressione della malattia [7]. Nel complesso, questi studi hanno dimostrato che le strategie di stratificazione dei pazienti con DMT2 basate su parametri clinici, multi-omici e/o antropometrici potrebbero contribuire a far luce sull'eterogeneità di questa malattia in termini di progressione, complicanze e di risposta alla terapia al fine di avanzare verso strategie di medicina di precisione.

## I microRNA: piccoli RNA circolanti e potenziali biomarcatori di malattia

I microRNA (miRNA) sono piccoli (~19–22 nucleotidi) RNA non codificanti per proteine, implicati nella regolazione dell'espressione genica. I miRNA sono stati associati a molteplici aspetti del DMT2, tra cui la disfunzione delle  $\beta$ -cellule, insulino-resistenza periferica e infiammazione. Negli ultimi anni, numerosi studi hanno dimostrato che i miRNA possono essere secreti dalle cellule che li producono e possono essere rilevati nei più comuni fluidi biologici (plasma, siero, urine, latte materno, liquido cerebrospinale e saliva). La funzione dei miRNA circolanti è ancora da caratterizzare in dettaglio; tuttavia, essi possono essere coinvolti in fenomeni di comunicazione cellula-cellula e, pertanto, possono essere considerati dei nuovi "ormoni". Numerosi studi hanno mostrato che alcuni miRNA circolanti risultano differenzialmente espressi nel DMT2 e possono essere associati a specifici parametri clinici, pertanto potenzialmente utilizzabili come biomarcatori di malattia.

## I microRNA circolanti: una risorsa per la medicina personalizzata nel diabete mellito di tipo 2?

Diversi studi hanno dimostrato che l'espressione differenziale dei miRNA circolanti è in grado di:

- predire il rischio di sviluppare DMT2 nel tempo;
- predire la futura risposta a diversi trattamenti farmacologici nel DMT2.

Sulla base degli studi disponibili, condotti nell'arco di un decennio di ricerche in questo settore, è possibile identificare 10 microRNA circolanti che sono risultati coerentemente differenzialmente espressi nel siero o nel plasma di

**Tabella 1** Lista degli studi condotti tra il 2011 e il 2022 che riportano in modo consistente l'espressione differenziale di miRNA circolanti (almeno 2 rilevazioni corrispondenti) nel plasma o nel siero di pazienti con DMT2 e/o prediabeti. *X rossa*, iperespressione. In ordine, sono riportati i primi autori e l'anno di pubblicazione, il numero di soggetti con DMT2, prediabetici e non diabetici, la durata dell'iperglicemia e il tipo di campione raccolto e utilizzato per l'analisi

Primo nome (anno di pubblicazione)	Numero di soggetti DMT2 (età media)	Numero di soggetti prediabetici (età media)	Numero di soggetti non diabetici (età media)	Durata malattia (media)	Terapia per DMT2	Tipo di campione	miR-126-3p	miR-21-5p	miR-223-3p	miR-146a-5p	miR-15a-5p	miR-30d-5p	miR-34a-5p	miR-24-3p	miR-30c-5p	miR-148a-3p
Kong et al (2011)	9 (47)	11 (49)	12 (41)	> 6 mesi	/	Siero				X	X	X	X			
Karolina et al (2012)	50	/	46	/	/	Eosomi da siero										
Zhang et al (2013)	30 (63)	30 (62)	30 (61)	/	/	Plasma EDTA	X									
Liu et al (2014)	160 (50)	157 (48)	138 (47)	/	Insulina + alimentazione corretta ed esercizio fisico per 6 mesi	Siero	X									
Ghorbani et al (2017)	45 (56)	/	42 (48)	/	Metformina	Siero		X								
Jiménez-Lucena et al (2018)	/	107 (59)	355 (57)	/	/	Plasma	X	X	X		X					
Zampetaki et al (2010)	80 (66)	/	80 (66)	/	/	Plasma	X	X	X		X			X		
Zhang et al (2015)	20 (61)	/	20 (57)	/	/	Plasma	X									
Olivieri et al (2015)	193 (66)	/	107 (64)	/	/	Plasma	X	X								
De Candia et al (2017)	22 (60)	56 (63)	44 (58)	/	/	Plasma	X					X				X
Witkowski et al (2016)	46 (64)	/	/	13.5	Ottimizzazione del trattamento antidiabetico	Plasma	X									
Yan et al (2016)	50 (46)	50 (44)	50 (45)	/	In base all'adattamento della dose dei farmaci	Plasma										
Said et al (2017)	100 (57)	/	20 (58)	11	Ipoglicemizzanti orali e/o Insulina	Plasma	X									
Stepień et al (2018)	15 (67)	/	15 (65)	6	Insulina e/o Metformina e/o Sulfaniluree	Ectosomi da plasma									X	
Seyan et al (2016)	31 (53)	12 (41)	27 (25)	/	Dieta/esercizio fisico o monoterapia con Metformina, sulfaniluree o inibitori DPP-4	Plasma		X		X	X	X	X			X

Tabella 1 (Continued)

Primo nome (anno di pubblicazione)	Numero di soggetti DMT2 (età media)	Numero di soggetti prediabetici (età media)	Numero di soggetti non diabetici (età media)	Durata malattia (media)	Terapia per DMT2	Tipo di campione	miR-126-3p	miR-21-5p	miR-223-3p	miR-146a-5p	miR-15a-5p	miR-30d-5p	miR-34a-5p	miR-24-3p	miR-30c-5p	miR-148a-3p
Catanzaro et al (2018)	40 (>65)	/	/	> 1	Dose massima di Metformina	Plasma	X		X							
Ghai et al (2019)	41	/	39	/	Metformina vs altri farmaci anti-diabetici	Plasma, EVs, plasma EVs-depleto				X	X				X	
Wang et al (2014)	33	/	119	/	/	Plasma								X		
Rong et al (2013)	90 (48)	/	90 (48)	/	/	Plasma				X						
Parrizas et al (2019)	/	3 (63)	39 (59)	/	/	EVs da siero			X							
Xiong et al (2019)	10 (51)	/	10 (54)	/	/	Esosomi										
Jiménez-Lucena et al (2020)	107 (59)	/	355 (57,5)	/	Dieta mediterranea o a basso contenuto di grassi	Plasma	X									
Fornichi et al (2021)	26 (60)	/	/	10	Metformina + analoghi GLP1	Plasma	X		X	X	X					
Yazdanpanah et al (2022)	24 (50)	29 (49)	29 (54,5)	/	/	Plasma				X						
<b>Evidenze totali</b>							<b>11</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>

pazient CON DMT2 e/o iperglicemici/prediabetici in almeno due studi indipendenti (Tabella 1), oppure associati alla progressione e allo sviluppo del DMT2, nonché alla risposta a specifiche terapie (nutrizionali e/o farmacologiche [8]).

I microRNA consistentemente identificati durante il corso degli anni sono i seguenti: miR-126-3p, miR-223-3p, miR-21-5p, miR-15a-5p, miR-30d-5p, miR-24-3p, miR-34a-5p, miR-146a-5p, miR-30c-5p, miR-148a-3p. Individualmente, questi miRNA circolanti sembrano giocare un ruolo significativo nella diagnosi e nella prognosi del DMT2. Tra questi, il miR-126-3p sembra essere il più promettente in quanto 11 studi indipendenti ne riportano la sua ipoespressione nel plasma o nel siero di pazienti con DMT2 rispetto a non diabetici [9–17].

L'analisi di espressione dei miRNA in questi studi è stata condotta in diversi biofluidi, inclusi campioni di plasma o siero di soggetti con DMT2, suscettibili al DMT2, soggetti con alterata tolleranza al glucosio (IGT/IFG), pazienti con DMT2 e complicanze cardiovascolari rispetto a soggetti normoglicemici non diabetici. Inoltre, l'espressione del miR-126-3p è stata associata a diversi parametri clinici di rilievo. Ad esempio, l'espressione del miR-126-3p è risultata inversamente correlata non solo alla comparsa del DMT2, ma anche alla trombogenicità legata al *Tissue Factor* (TF) e agli eventi cardiovascolari gravi, mostrando proprietà anti-trombotiche [15]. In effetti, il miR-126-3p è stato definito in numerosi lavori come un "angiomiR", in quanto prevalentemente coinvolto nella compromissione della segnalazione angiogenica periferica e nella modulazione dell'infiammazione cardiovascolare nel DMT2 [9]. Pertanto, il miR-126-3p è stato proposto come potenziale biomarcatore per la diagnosi e il *follow-up* dei pazienti con DMT2, nonché come miRNA adatto per la selezione della terapia nutrizionale e/o farmacologica più appropriata in base alle caratteristiche cliniche di ciascun paziente con DMT2.

Anche l'espressione di altri miRNA è stata ripetutamente rilevata ridotta nel plasma o nel siero di pazienti con DMT2 rispetto a soggetti normoglicemici non diabetici. Tra questi, quelli maggiormente riportati sono i miRNA miR-223-3p, miR-21-5p, miR-15a-5p e miR-24-3p [9, 10, 13, 14, 17–22]. Infatti, i livelli di espressione del miR-24-3p risultano significativamente correlati con l'espressione di miR-126-3p, miR-21-5p e miR-223-3p [9, 22], essendo tutti ipoespressi nei soggetti con DMT2 rispetto a IGT o IFG e ai soggetti normoglicemici. È interessante notare che l'espressione della maggior parte di questi miRNA risulta essere positivamente correlata a diverse caratteristiche cliniche associate al DMT2 [18, 19, 21]. Nello specifico, l'espressione dei miRNA miR-15a-5p e miR-21-5p è positivamente correlata con l'HbA1c; inoltre, i livelli di espressione del miR-15a-5p sono stati riportati come direttamente associati anche ai livelli di glucosio plasmatico a digiuno (FPG) e all'indice di insulino-resistenza HOMA-IR, indicando come questi miRNA svolgano un ruolo importante nel controllo metabolico.

Un altro gruppo di miRNA che potrebbero rappresentare dei potenziali biomarcatori per il DMT2 è composto dai miRNA miR-34a-5p, miR-146a-5p, miR-148a-3p, miR-30c e miR-30d-5p. Questi miRNA sono iperespressi nel plasma o nel siero di pazienti con DMT2 e, in alcuni studi, anche in soggetti prediabetici, nonché nei soggetti obesi rispetto a quelli normopeso. Tra questi, il miR-34a-5p sembrerebbe il miRNA più promettente, in quanto la sua iperespressione è stata riportata in due studi indipendenti condotti in differenti biofluidi (siero *vs* plasma), mostrando un'elevata capacità di distinguere i pazienti con DMT2 dai non diabetici e dai prediabetici [18]. Inoltre, l'espressione del miR-34a-5p ha mostrato una correlazione positiva con la funzione  $\beta$ -cellulare (espressa come HOMA-B) nei prediabetici e, al contrario, una correlazione negativa nei pazienti con DMT2, nonché una correlazione diretta con l'insulino-resistenza (HOMA-IR). Un'osservazione degna di nota riguarda le discrepanze osservate tra i diversi studi. Per esempio, uno studio ha riportato una maggiore espressione del miR-21-5p nel plasma di DMT2, Latent Autoimmune Diabetes in Adult (LADA) e Diabete Mellito di Tipo 1 (DMT1) rispetto ai soggetti non diabetici, in contrasto con la ridotta espressione dello stesso miRNA riportata dai gruppi di ricerca di Ghorbani, Zampetaki ed Olivieri [9, 14, 19].

### Variabili da valutare per l'utilizzo dei microRNA come biomarcatori del diabete mellito di tipo 2

Sebbene i 10 miRNA circolanti analizzati risultino differenzialmente espressi in maniera concorde in diversi studi, altri lavori hanno riportato un notevole numero di discrepanze. Tali discrepanze possono essere dovute a diverse variabili:

- pre-analitiche, quali la scelta del biofluido (plasma o siero) e di raccolta campione (emolisi) [23];
- analitiche, quali la procedura di isolamento dell'RNA, la scelta della metodica e piattaforma di analisi e DELLA strategia di normalizzazione;
- fattori individuali correlati al paziente.

Al fine di standardizzare le procedure pre-analitiche e analitiche, sono in corso numerosi studi metodologici, principalmente condotti da consorzi nell'ambito di progetti su larga scala in cui numerosi campioni vengono raccolti e analizzati in modo uniforme. Questi approcci porteranno all'identificazione di robusti biomarcatori circolanti.

### Prospettive future: dal laboratorio alla clinica

La ricerca sistematica di letteratura riportata in questa rassegna dimostra che alcuni miRNA potrebbero rappresentare dei validi biomarcatori circolanti per il DMT2. Tuttavia, alcuni di essi non risultano essere specifici esclusivamente per



il DMT2 (ad esempio miR-126-3p, miR-21-5p, ecc.), ma sono differenzialmente espressi anche in altre forme di diabete (LADA, DMT1, ecc.), nonché in altre patologie, in particolare modo in quelle cardiovascolari, che rappresentano una parte importante delle complicanze del DMT2. Questo è uno dei motivi per cui i miRNA che abbiamo riportato sono stati proposti come biomarcatori prognostici, diagnostici o di risposta alla terapia, ma non sono attualmente in uso nella pratica clinica. In effetti, tali evidenze portano alla conclusione che l'espressione differenziale di un singolo miRNA circolante non sia abbastanza affidabile ed emerge, dunque, la necessità di identificare un gruppo di miRNA differenzialmente espressi che vadano a rappresentare un *pattern* di biomarcatori, con elevati criteri di specificità e sensibilità.

Pertanto, l'utilizzo di un gruppo di microRNA circolanti potrebbe rappresentare uno strumento utile per la diagnosi, il monitoraggio e la somministrazione di terapie personalizzate appropriate alle caratteristiche cliniche del singolo paziente.

In conclusione, nonostante alcune discrepanze nei risultati degli studi riportati in questa rassegna, è possibile evidenziare una serie di miRNA che, insieme a parametri clinici ben consolidati, potrebbero essere potenzialmente utilizzati in diagnostica per la gestione dei pazienti con DMT2.

**Funding Note** Open access funding provided by Università degli Studi di Siena within the CRUI-CARE Agreement.

## Dichiarazioni etiche

**Conflitto di interesse** Gli autori Giuseppina Emanuela Grieco, Daniela Fignani, Francesco Dotta e Guido Sebastiani dichiarano di non avere conflitti di interesse.

**Consenso informato** Lo studio presentato in questo articolo non ha richiesto sperimentazione umana.

**Studi sugli animali** Gli autori di questo articolo non hanno eseguito studi sugli animali.

**Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

## Bibliografia

- Boecker M, Lai AG (2020) Could personalised risk prediction for type 2 diabetes using polygenic risk scores direct prevention, enhance diagnostics, or improve treatment? Wellcome Open Res 5:206
- Udler MS, Kim J, von Grothuss M et al (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
- Ahlqvist E, Storm P, Käräjämäki A et al (2018) Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables. Lancet Diabetes Endocrinol 6:361–369
- Ahlqvist E, Tuomi T, Groop L (2019) Clusters provide a better holistic view of type 2 diabetes than simple clinical features. Lancet Diabetes Endocrinol 7:668–669
- Dennis JM, Shields BM, Henley WE et al (2019) Disease progression and treatment response in data-driven subgroups of type 2 diabetes compared with models based on simple clinical features: an analysis using clinical trial data. Lancet Diabetes Endocrinol 7:442–451
- Khoshnejat M, Kavousi K, Banaei-Moghaddam AM, Moosavi-Movahedi AA (2020) Unraveling the molecular heterogeneity in type 2 diabetes: a potential subtype discovery followed by metabolic modeling. BMC Med Genom 13:119
- Wesolowska-Andersen A, Brorsson CA, Bizzotto R et al (2022) Four groups of type 2 diabetes contribute to the etiological and clinical heterogeneity in newly diagnosed individuals: an IMI DIRECT study. Cell Reports Medicine 100477
- Formichi C, Fignani D, Nigi L et al (2021) Circulating microRNAs signature for predicting response to GLP1-RA therapy in type 2 diabetic patients: a pilot study. Int J Mol Sci 22(17):9454
- Zampetaki A, Kiechl S, Drozdov I et al (2010) Plasma microRNA profiling reveals loss of endothelial miR-126 and other microRNAs in type 2 diabetes. Circ Res 107:810–817
- Zhang T, Lv C, Li L et al (2013) Plasma miR-126 is a potential biomarker for early prediction of type 2 diabetes mellitus in susceptible individuals. BioMed Res Int 2013:761617
- Liu Y, Gao G, Yang C et al (2014) The role of circulating microRNA-126 (miR-126): a novel biomarker for screening pre-diabetes and newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. Int J Mol Sci 15:10567–10577
- Zhang T, Li L, Shang Q et al (2015) Circulating miR-126 is a potential biomarker to predict the onset of type 2 diabetes mellitus in susceptible individuals. Biochem Biophys Res Commun 463:60–63
- Jiménez-Lucena R, Rangel-Zúñiga OA, Alcalá-Díaz JF et al (2018) Circulating miRNAs as predictive biomarkers of type 2 diabetes mellitus development in coronary heart disease patients from the CORDIOPREV study. Mol Ther Nucleic Acids 12:146–157
- Olivieri F, Spazzafumo L, Bonafè M et al (2015) MiR-21-5p and miR-126a-3p levels in plasma and circulating angiogenic cells: relationship with type 2 diabetes complications. Oncotarget 6:35372–35382
- Witkowski M, Weithauser A, Tabaraie T et al (2016) MicroRNA-126 reduces the blood thrombogenicity in diabetes mellitus via targeting of tissue factor. Arterioscler Thromb Vasc Biol 36:1263–1271
- Amr KS, Abdelmawgoud H, Ali ZY et al (2018) Potential value of circulating microRNA-126 and microRNA-210 as biomarkers for type 2 diabetes with coronary artery disease. Br J Biomed Sci 75:82–87
- Catanzaro G, Besharat ZM, Chiacchiarini M et al (2018) Circulating microRNAs in elderly type 2 diabetic patients. Int J Endocrinol 2018:6872635
- Seyhan AA, Nunez Lopez YO, Xie H et al (2016) Pancreas-enriched miRNAs are altered in the circulation of subjects with diabetes: a pilot cross-sectional study. Sci Rep 6:31479

19. Ghorbani S, Mahdavi R, Alipoor B et al (2018) Decreased serum microRNA-21 level is associated with obesity in healthy and type 2 diabetic subjects. *Arch Physiol Biochem* 124:300–305
20. Ghai V, Kim T-K, Etheridge A et al (2019) Extracellular vesicle encapsulated MicroRNAs in patients with type 2 diabetes are affected by metformin treatment. *J Clin Med* 8(5):617
21. Sangalli E, Tagliabue E, Sala LL et al (2020) Circulating MicroRNA-15a associates with retinal damage in patients with early stage type 2 diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne)* 11:254
22. Wang X, Sundquist J, Zöller B et al (2014) Determination of 14 circulating microRNAs in Swedes and Iraqis with and without diabetes mellitus type 2. *PLoS ONE* 9:e86792
23. Grieco GE, Sebastiani G, Fignani D et al (2021) Protocol to analyze circulating small non-coding RNAs by high-throughput RNA sequencing from human plasma samples. *STAR Protocols* 2:100606

**Nota della casa editrice** Springer Nature rimane neutrale in riguardo alle rivendicazioni giurisdizionali nelle mappe pubblicate e nelle affiliazioni istituzionali.