ANÁLISE *IN SILICO* DO PROCESSO DE REGENERAÇÃO CELULAR ATRAVÉS DA INTERAÇÃO *PIWI*/PIRNA EM *MUS MUSCULUS*

Isabele Pagani Pavan[1*], Bianca Paulino Campanharo[1*], Giulia Maria Giacinti[1*], Matheus Correia Casotti[2*], Débora Dummer Meira[3*], Iuri Drummond Louro[3*]

[1] Estudante de graduação em Ciências Biológicas
[2] Estudante de Mestrado e Doutorado em Biotecnologia
[3] Professor da Universidade Federal do Espírito Santo e Orientador
***Núcleo de Genética Humana e Molecular**, Universidade Federal do Espírito Santo. Av. Fernando Ferrari, 514, Goiabeiras, 29075-910, Vitória - ES, Brasil.

Palavras-chave: Biologia de Sistemas. Interação PIWI/piRNA. Regeneração celular.

INTRODUÇÃO

A regeneração celular e tecidual é um tópico importante na medicina e biologia, mas sua compreensão ainda é limitada e, notoriamente, a diferenciação tecidual dificulta a regeneração, especialmente em vertebrados. Recentemente, aumentemoa a compreensão que epigenética desempenha um papel crucial na regulação da diferenciação celular e na promoção da regeneração, em especial através dos RNAs não codificantes, incluindo piRNAs (pequenos RNAs silenciadores de fita simples). Eles têm sido destacados por seu papel na estabilidade celular e na regulação de genes.

Os piRNAs são diferentes de outros tipos de RNAs pequenos, sendo maiores e não conservando sua sequência. Eles desempenham funções na epigenética, na defesa contra infecções virais e na regeneração celular. Estudos recentes mostram que também são importantes em tecidos somáticos, como o tecido nervoso, onde sua desregulação está ligada a doenças neurológicas.

A biogênese dos piRNAs é complexa, envolvendo duas vias diferentes, e sua conservação evolutiva é notável, sugerindo um papel importante ao longo da evolução. As interações entre proteínas e piRNAs desempenham um papel crucial na regeneração celular, especialmente em modelos animais como o *Mus musculus* (camundongo), que é semelhante aos humanos em termos genéticos.

Portanto, o estudo visa aprofundar o entendimento do mecanismo molecular do PIWI/piRNA na regeneração celular em tecidos de *Mus musculus* por meio de análises computacionais e investigar as interações entre proteínas e piRNAs, identificando as proteínas-chave envolvidas na via e suas funções.

METODOLOGIA

A metodologia desta pesquisa se fundamenta na abordagem quantitativa e qualitativa, com busca na validação e desenho experimental in silico. Os processos utilizados neste projeto foram divididos em duas etapas principais, sendo (i) Curadoria Manual, através da base de dados PUBMED, investigando as principais proteínas da via de interação PIWI/piRNA com ênfase em Mus musculus; e (ii)

Construção das Redes de Interação Proteína-Proteína (PPIN) sobre vias associadas ao gene PIWI e o piRNA, por meio dos bancos de dados online do STRING versão 11.0, através do download do aplicativo string App, no software Cytoscape.

As etapas para a construção das redes de interação proteína-proteína e realização das análises topológicas e funcionais foram realizadas conforme protocolo desenvolvido pelo grupo de pesquisa em Biologia Computacional e de Sistemas (SCBG) do Núcleo de Genética Humana e Molecular (NGHM) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) conforme descrito em Casotti et al. (2022). As associações no STRING seguiram uma pontuação de confiança alta de 0,7, as fontes de interação foram baseadas em dados experimentais da curadoria e o número de interatores no shell 1 e 2 foi de 50 em cada.

Após a construção das redes, para a realizar as análises das redes foi utilizado o Cytoscape (versão 3.8.2), seguindo um procedimento básico com um plug-in para analisar as propriedades topológicas da rede. O plug-in Network Analyzer foi usado para calcular os parâmetros topológicos básicos das PPINs, como a distribuição de grau, coeficiente de agrupamento, centralidades, distribuição de caminhos e distribuição de coeficientes topológicos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, a espécie Mus musculus (camundongo) foi escolhida como um modelo de pesquisa devido à sua relevância na regeneração celular e à sua capacidade de fornecer insights para futuras pesquisas em seres humanos. Para investigar as proteínas envolvidas na regeneração celular em camundongos, a equipe utilizou a base de dados Uniprot para identificar proteínas específicas e, em seguida, construiu uma rede de interação proteína-proteína (PPIN) usando o *software* Cytoscape, com o auxílio do aplicativo *StringApp.*

A PPIN resultante de *Mus musculus* revelou-se complexa, composta por 115 nós principais e 694 arestas representando as interações entre essas proteínas. A análise topológica da rede mostrou características comuns em redes biológicas naturais, como alta heterogeneidade, o que significa que algumas proteínas tinham muitas interações, enquanto outras tinham poucas. Além disso, a rede exibiu poucas conexões de longa distância, alto coeficiente de aglomeração e diâmetro pequeno, indicando uma estrutura de "pequeno mundo" em que as proteínas interagem de forma altamente coordenada.

Uma análise de enriquecimento de vias demonstrou que a via mais destacada na rede está relacionada ao metabolismo do RNA. Esse resultado sugere que a via PIWI/piRNA desempenha um papel fundamental na regulação pós-transcricional em células somáticas, com foco na estabilidade do RNA e sua tradução eficiente em proteínas funcionais. Essa descoberta amplia nosso entendimento das estratégias celulares para ajustar a produção e o destino dos RNAs, o que é crucial para a função celular e a manutenção da homeostase.

Dentro da rede, cinco proteínas se destacaram: a proteína Hsp90aa1 desempenha um papel importante na regulação do ciclo celular e na transdução de sinais extracelulares. Hnrnpc está envolvida no controle de tradução e transporte de RNA, enquanto DhX9 atua como uma helicase multifuncional em processos essenciais, como replicação do DNA e regulação pós-transcricional do RNA. Ptges3 atua como uma chaperona molecular, desempenhando um papel crucial na modulação da ativação transcricional mediada por receptores. Além disso, a proteína Gpat2 está envolvida na biossíntese de piRNA e na regulação de elementos genéticos transponíveis.

No geral, este estudo forneceu uma visão mais clara das interações moleculares complexas que sustentam a regulação pós-transcricional da expressão gênica. Essas descobertas têm implicações significativas para a regeneração celular e a homeostase, além de destacar proteínas-chave na via *PIWI*/piRNA que desempenham funções essenciais no processo de regeneração celular.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo, foram investigadas proteínas relevantes da via PIWI/piRNA e sua interação com processos regulatórios e de processamento de RNA, tanto epigenéticos como não epigenéticos. Essas proteínas desempenham papéis cruciais na regulação da expressão gênica, no silenciamento de genes, na manutenção da conformidade estrutural de moléculas e na integridade molecular de proteínas. Tais mecanismos são essenciais para a proliferação celular e a regeneração de tecidos, bem como para a diferenciação de células especializadas, especialmente no tecido nervoso.

Este trabalho também destaca a importância dessas proteínas na modulação genética e na regulação de marcadores moleculares em doenças neurodegenerativas, como Alzheimer, Parkinson e Síndrome de Rett, descobertas que sugerem que a via PIWI/piRNA desempenha um papel crucial na regeneração celular, especialmente no sistema nervoso central.

Além disso, levantou-se questões sobre a mudança na função da via PIWI/piRNA ao longo da evolução, sugerindo que a via se tornou mais relevante em células somáticas em mamíferos, possivelmente relacionada à diminuição da capacidade regenerativa em animais superiores e levantando questões sobre os direcionamentos evolutivos e as vantagens adaptativas que levaram a essa mudança na função da via.

Por fim, os resultados têm implicações na busca por alvos terapêuticos específicos e eficazes em doenças degenerativas, especialmente no sistema nervoso central e fornece insights valiosos sobre as complexas interações das proteínas na via PIWI/piRNA e seu papel na regulação pós-transcricional da expressão gênica. Compreender a via PIWI/piRNA e suas interações pode levar ao desenvolvimento de tratamentos direcionados e personalizados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CASOTTI, Matheus C.; MEIRA, Debora D. Construindo redes de interação proteína-proteína por curadoria manual. Bioinfo, 2021.

GRILLARI, Johannes; GRILLARI-VOGLAUER, Regina. Novel modulators of senescence, aging, and longevity: Small non-coding RNAs enter the stage. Experimental gerontology, v. 45, n. 4, p. 302-311, 2010.

LI, Danyan; TAYLOR, David H.; VAN WOLFSWINKEL, Josien C. PIWI-mediated control of tissue-specific transposons is essential for somatic cell differentiation. Cell reports, v. 37, n. 1, 2021.
NAQVI, Afsar Raza et al. The fascinating world of RNA interference. International journal of biological sciences, v. 5, n. 2, p. 97, 2009.

OW, M. C.; HALL, S. E. piRNAs and endo-siRNAs: Small molecules with large roles in the nervous system. Neurochem Int., Syracuse, NY, v. 148, 2021.

OZATA, D. M et al. PIWI-interacting RNAs: small RNAs with big functions, Nature Reviews, Genetics, Londres, v. 20, p. 89-106, 2019.

RAMAT, A.; SIMONELIG, M. Functions of PIWI Proteins in Gene Regulation: New Arrows Added to the piRNA. Quiver, Trends Genet, Cambridge, v. 37(2), p. 188-200, 2021.

ROJAS-RÍOS, Patricia; SIMONELIG, Martine. piRNAs and PIWI proteins: regulators of gene expression in development and stem cells. Development, v. 145, n. 17, p. dev161786, 2018.

ROSS, R. J.; WEINER, M. M.; LIN, H. Proteínas PIWI e RNAs que interagem com PIWI no soma. Nature, Londres, v. 505, p. 353–359, 2014.

SATO, Kaoru; TAKAYAMA, Ken-ichi; INOUE, Satoshi. Role of piRNA biogenesis and its neuronal function in the development of neurodegenerative diseases. Frontiers in Aging Neuroscience, v. 15, p. 1157818, 2023.

TYCZEWSKA, Agata et al. The emerging roles of tRNAs and tRNA-derived fragments during aging: Lessons from studies on model organisms. Ageing Research Reviews, p. 101863, 2023.

WEI, J.-W. et al. RNAs não codificantes como reguladores em epigenética (revisão). Oncology Reports, Londres, v. 37(1), p. 3-9, 2017.