



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

***IN SILICO ANALYSIS OF THE CELL REGENERATION PROCESS THROUGH PIWI/PIRNA
INTERACTION IN MUS MUSCULUS***

***ANÁLISIS IN SILICO DEL PROCESO DE REGENERACIÓN CELULAR MEDIANTE LA
INTERACCIÓN PIWI/PIRNA EN MUS MUSCULUS***

Isabele Pagani Pavan¹, Iris Moreira da Silva², Matheus Correia Casotti², Luana Santos Louro³, Thomas Erik Santos Louro³, Elizeu Fagundes de Carvalho⁴, Débora Dummer Meira², Lúri Drumond Louro²

e4104302

<https://doi.org/10.47820/recima21.v4i10.4302>

PUBLICADO: 10/2023

RESUMO

A regeneração celular e tecidual, muito abordada em diversas áreas da medicina e da biologia, ainda permanece com lacunas sobre seus processos e funcionamento. Na última década, elucidou-se o papel da epigenética na referida função, dando-se ênfase para RNAs não codificantes, e entre eles, os piRNAs (*PIWI-interacting RNAs*), antes conhecidos por sua atuação em células germinativas e no controle de elementos transponíveis. Estudos recentes demonstraram funções dos piRNA em células de tecidos somáticos, como o nervoso, e pesquisas com pequenos roedores, especialmente em *Mus musculus*, apontaram uma importante ligação entre a expressão dessa via e o correto funcionamento do processo de regeneração. Por ser um desafio relevante para a medicina regenerativa entender esses processos, através de estudos robustos aqui descritos e utilizando ferramentas de Bioinformática, construiu-se redes de interação proteína-proteína (PPIN) para identificar proteínas-alvo para tratamentos terapêuticos com base no funcionamento da via do gene *PIWI/piRNA* em *Mus musculus*. A partir da análise dessas redes, conseguimos identificar proteínas relevantes, assim como suas interações, para o processo regenerativo em mamíferos e, com esses resultados, futuramente, poder-se-á desenvolver testes *in vivo* com base nos dados obtidos *in silico*, economizando, assim, tempo e investimentos financeiros.

PALAVRAS-CHAVE: Biologia de Sistemas. Interação PIWI/piRNA. Regeneração celular.

ABSTRACT

*Cell and tissue regeneration, much discussed in various areas of medicine and biology, still has gaps in its processes and functioning. In the last decade, the role of epigenetics in this function has been elucidated, with emphasis on non-coding RNAs, including piRNAs (PIWI-interacting RNAs), previously known for their role in germ cells and in controlling transposable elements. Recent studies have demonstrated piRNA functions in somatic tissue cells, such as the nervous system, and research in small rodents, especially *Mus musculus*, has indicated an important link between the expression of this pathway and the correct functioning of the regeneration process. As it is a relevant challenge for regenerative medicine to understand these processes, through the robust studies described here and using Bioinformatics tools, protein-protein interaction networks (PPIN) were built to identify target proteins for therapeutic treatments based on the functioning of the PIWI/piRNA gene pathway in *Mus musculus*. By analyzing these networks, we were able to identify relevant proteins, as well as their interactions, for the regenerative process in mammals and, with these results, in the future we will be able to develop *in vivo* tests based on the data obtained *in silico*, thus saving time and financial investment.*

KEYWORDS: Systems Biology. PIWI/piRNA interaction. Cell regeneration.

¹ Universidade Federal do Espírito Santo - Aluna de Iniciação Científica - Licenciada em Ciências Biológicas e bacharelada em Ciências Biológicas.

² Universidade Federal do Espírito Santo.

³ Emescam - Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória.

⁴ Universidade Federal do Rio de Janeiro.



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

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

Isabele Pagani Pavan, Iris Moreira da Silva, Matheus Correia Casotti, Luana Santos Louro,
Thomas Erik Santos Louro, Elizeu Fagundes de Carvalho, Débora Dummer Meira, Líri Drumond Louro

RESUMEN

*La regeneración celular y tisular, muy discutida en diversos ámbitos de la medicina y la biología, aún presenta lagunas en cuanto a sus procesos y funcionamiento. En la última década se ha dilucidado el papel de la epigenética en esta función, con énfasis en los ARN no codificantes, entre ellos los piARN (ARN que interactúan con PIWI), antes conocidos por su papel en las células germinales y en el control de los elementos transponibles. Estudios recientes han demostrado las funciones de los piRNAs en células de tejidos somáticos, como el sistema nervioso, y la investigación en pequeños roedores, especialmente *Mus musculus*, ha indicado un importante vínculo entre la expresión de esta vía y el correcto funcionamiento del proceso de regeneración. Dado que entender estos procesos es un reto relevante para la medicina regenerativa, a través de los robustos estudios aquí descritos y utilizando herramientas de Bioinformática, se construyeron redes de interacción proteína-proteína (PPIN) para identificar proteínas diana para tratamientos terapéuticos basados en el funcionamiento de la vía génica PIWI/piRNA en *Mus musculus*. Mediante el análisis de estas redes, pudimos identificar proteínas relevantes, así como sus interacciones, para el proceso regenerativo en mamíferos y, con estos resultados, en el futuro podremos desarrollar ensayos *in vivo* basados en los datos obtenidos *in silico*, ahorrando así tiempo e inversión económica.*

PALABRAS CLAVE: *Biología de sistemas. Interacción PIWI/piRNA. Regeneración celular.*

INTRODUÇÃO

A habilidade de regeneração celular e tecidual é uma constante de estudo em diversas áreas da medicina e da biologia, e o aparelhamento da célula para modulação de senescência e controle de atividades reparativas empregou décadas de estudo e ainda permanece incompleto. Sabe-se que a diferenciação celular é um fator que dificulta o processo de regeneração, e que células mais diferenciadas acabam por ter sua habilidade de renovação prejudicada, e, por isso, vertebrados, que apenas possuem células tronco pluripotentes em seus estágios iniciais de desenvolvimento apresentam baixa capacidade regenerativa (Kashima *et al.*, 2020).

Todavia, o emprego da epigenética nesse processo através da regulação de genes que controlam a diferenciação celular, e conseqüentemente, o crescimento e proliferação celular, vem acumulando evidências na última década, estimulado pela genômica funcional e comparativa, em especial no que diz respeito ao papel dos RNAs não codificantes (Wei *et al.*, 2017), uma classe de RNAs que não são expressos em proteínas funcionais, mas que se destacam por outras importantes atribuições, como na persistência da estabilidade das células somáticas (Ow; Hall *et al.*, 2021).

Eles são divididos pela sua função de manutenção ou reguladores, e este pelo seu tamanho: de cadeia curta (incluindo siRNAs, miRNAs e piRNAs) e de cadeia longa (lncRNAs). Os piRNA (*PIWI-interacting RNAs*) são pequenos RNAs silenciadores de fita simples presentes em animais vertebrados e invertebrados que interagem com o gene *PIWI* (*P-element Induced Wimpy testis*) e suas respectivas proteínas, e foram descobertos inicialmente nos testículos de *Drosophila melanogaster*, atuando em suas células tronco da linha germinativa (Ross, 2014). Diferenciam-se de outros microRNAs (miRNAs), dentre outras características, por seu tamanho relativamente maior (de 24 a 32 bases de nucleotídeos, aproximadamente) e a falta de conservação da sua sequência (Kim, 2019).



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

ANÁLISE *IN SILICO* DO PROCESSO DE REGENERAÇÃO CELULAR ATRAVÉS DA
INTERAÇÃO *PIWI*/PIRNA EM *MUS MUSCULUS*
Isabele Pagani Pavan, Iris Moreira da Silva, Matheus Correia Casotti, Luana Santos Louro,
Thomas Erik Santos Louro, Elizeu Fagundes de Carvalho, Débora Dummer Meira, Iúri Drumond Louro

Transcrito de grandes RNAs precursores (lncRNAs), os piRNA dificilmente seguem um padrão entre as espécies e suas funções mais conhecidas atualmente envolvem epigenética (especialmente na repressão de transposons, através de sua metilação, e controle de mRNAs), o combate a infecções virais (Ozata *et al.*, 2019) e atuação em linhagens germinativas, e, mais recentemente, desvendando a sua participação na regeneração celular ao longo da evolução dos metazoários. Consequentemente, torna-se relevante investigar o envolvimento de *PIWI* e dos vários tipos de piRNA na regeneração celular em mamíferos, levando à necessidade de estudos profundos para elucidar os mecanismos participantes da via de interação de *PIWI*/piRNA.

Recentemente, novos estudos mostraram que os piRNAs também possuem papéis importantes em tecidos somáticos, embora em uma taxa menor que em linhas germinativas, como nas células somáticas das gônadas, onde seu silenciamento leva a um fenótipo de infertilidade (KIM, 2019). No tecido nervoso, o silenciamento da via do gene *PIWI* acarreta o bloqueio da sua função inibitória para com a regeneração celular do tecido nervoso, sendo que a via neuronal de *PIWI*/piRNA (como relatado em pareceres de lesões neuronais em ratos e camundongos, sendo os locais afetados foco de expressão do gene *PIWI*) mostra-se importante na resposta regenerativa celular em nervos periféricos. Além disso, sua desregulação relaciona-se com a manifestação de diversas doenças degenerativas neuronais e de neurodesenvolvimento, como autismo (Iossifiv *et al.*, 2014; Wakisaka *et al.*, 2019) síndrome de Rett (KIM, 2014), Alzheimer e síndrome de Parkinson (Wakisaka *et al.*, 2019), provenientes da ação de elementos transponíveis, mutações, degenerações e esgotamento na expressividade de proteínas determinantes na regeneração e no ciclo celular.

Outras pesquisas ainda apontaram a expressão de *PIWI* e piRNA em alguns dos demais tecidos somáticos, como nas células do fígado de camundongos, no pâncreas e nos pulmões de ratos (Grillari *et al.*, 2010). A biogênese de piRNA mediada por genes *PIWI* é conservada em células de mamíferos através de duas vias diferentes: a primeira, já citada, originada de DNAs precursores longos, e a via secundária com proteínas *PIWI* ampliando piRNAs já maduros, sendo sua expressão regulada junto com a metilação do DNA durante a diferenciação de células neuronais (Wakisaka *et al.*, 2019).

Seus modelos de biogênese com mecanismos unificados explicam sua presença em diversas espécies e sugerem uma conservação evolutiva de 800 milhões de anos e em Porifera, Cnidaria, Ctenophora, Platemintos, Mollusca, Arthropoda e Chordata relata-se a presença de diversas linhagens do gene *PIWI* em células somáticas (Ross *et al.*, 2014), claramente indicando a importância da conservação de *PIWI* durante a evolução desses diversos grupos. A conservação das vias de interação, a regulação de mRNAs e de suas proteínas fornecem um entendimento de manutenção da função de *PIWI*-piRNA ao longo da evolução e fazer associações comparativas entre animais diversos na escala evolutiva pode orientar e proporcionar novas elucidações sobre o potencial regenerativo ao decorrer da “escada filogenética”.

A revisão bibliográfica apontou diversas homologias entre as proteínas expressas na citada via em três espécies de animais modelo no qual o estudo se debruçou: *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila*



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

ANÁLISE *IN SILICO* DO PROCESSO DE REGENERAÇÃO CELULAR ATRAVÉS DA INTERAÇÃO *PIWI*/PIRNA EM *MUS MUSCULUS*
Isabele Pagani Pavan, Iris Moreira da Silva, Matheus Correia Casotti, Luana Santos Louro, Thomas Erik Santos Louro, Elizeu Fagundes de Carvalho, Débora Dummer Meira, Iúri Drumond Louro

melanogaster e *Mus musculus*. Em vista disso, avançando e visando o propósito dessas pesquisas a longo prazo, verificou-se ser necessário aprofundar as análises das redes de interação proteína-proteína da espécie que mais se aproxima aos seres humanos dentre os modelos utilizados, que é *M. musculus* (principal organismo-modelo relacionado à genética de mamíferos).

Reforçando, dessa forma, a importância em se aprofundar estes estudos, pois há uma maior especificidade das proteínas, principalmente em relação ao processo regenerativo em um modelo muito interessante (*M. musculus*), cujos dados possuem maiores sustentações teóricas, para que possam ser trabalhados futuramente em bancada seca e molhada com certa facilidade e acessibilidade (diante dos demais modelos tanto a parte experimental quanto a padronização serem mais custosos). Sendo, portanto, o objetivo maior deste estudo elucidar o mecanismo molecular de *PIWI*/piRNA no processo de regeneração celular em tecidos de *Mus musculus* de forma comparativa através de estudos *in silico*, e para além, descrever as propriedades topológicas e ontológicas da rede de interação proteína-proteína representante da associação *PIWI*/piRNA no processo regenerativo com ênfase em *Mus musculus*.

Com este foco, construiu-se através do aplicativo *Cytoscape* redes de interação proteína-proteína (PPIN) da espécie padrão para trabalhos com regeneração celular em mamíferos: *Mus musculus*. Aprofundamos, assim, nosso entendimento acerca dos elementos moleculares da via de *PIWI*/piRNA, investigando as conexões entre as proteínas participantes, seus acompanhantes moleculares e a interação destes com o próprio piRNA, identificando entre os elementos envolvidos na via as principais proteínas participantes e descrevendo suas funções.

1 METODOLOGIA

A pesquisa se sustenta em uma abordagem quantitativa e qualitativa, com uma natureza básica e aplicada sobre a validação da busca e desenho experimental *in silico*. Além disso, os objetivos principais foram baseados em uma busca bibliográfica por meio do *PUBMED*, visando à análise de artigos focalizados nas principais proteínas da via de interação *PIWI*/piRNA com ênfase em *Mus musculus*. Ao mesmo tempo, foram estabelecidas associações de variáveis alcançadas pela análise de redes de interação proteína-proteína sobre vias associadas ao gene *PIWI* e o piRNA. Todos os processos necessários para a realização deste projeto foram divididos em duas etapas principais, sendo (i) Curadoria Manual; e (ii) Construção das Redes de Interação Proteína-Proteína. Assim, serão descritas cada etapa ao decorrer dessa metodologia.

1.1 Curadoria Manual

Realizou-se uma busca no *PUBMED* com as palavras-chave: “*PIWI* OR piRNA” [Title/Abstract] AND “regeneration” [Title/Abstract] AND “*Mus musculus*” [Title/Abstract], seguindo-se alguns parâmetros bem-organizados e planejados previamente, como se segue exposto pelos critérios a seguir:



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

ANÁLISE *IN SILICO* DO PROCESSO DE REGENERAÇÃO CELULAR ATRAVÉS DA INTERAÇÃO *PIWI*/PIRNA EM *MUS MUSCULUS*
Isabele Pagani Pavan, Iris Moreira da Silva, Matheus Correia Casotti, Luana Santos Louro, Thomas Erik Santos Louro, Elizeu Fagundes de Carvalho, Débora Dummer Meira, Líri Drumond Louro

Critérios de Inclusão:

1. Artigos de revisão ou experimentais em humanos ou linhagens humanas ou outros organismos;
2. Artigos de revisão ou experimentais com acesso livre através do PUBMED ou pelo cadastro universitário no Portal Periódicos CAPES;
3. Possuir nos títulos os termos: “*PIWI*” OU “*piRNA*” OU “*Regeneration*” OU “*Mus musculus*” OU “*PIWI* *funcions in Mus musculus*” OU “*PIWI* *interating proteins*” OU “*piRNA in Mus musculus*” OU “*piRNA* *funcions in Mus musculus*” OU “*proteins and regeneration in Mus musculus*” OU “*cell regeneration in Mus musculus*” OU “*regeneration of Mus musculus’ tissues*” OU “*regeneration and PIWI in Mus musculus*” OU “*piRNA in Mus musculus*”.

Critérios para exclusão:

1. Ausência de todos os termos especificados na inclusão dos títulos;
2. Artigos de revisão ou experimentais inacessíveis.

As etapas para a construção das redes de interação proteína-proteína e realização das análises topológicas e funcionais são descritas abaixo. É importante salientar que este é um 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). Este protocolo foi padronizado pelos pesquisadores do SCBG/NGHM e possui uma metodologia diferenciada de outras metodologias de outros grupos de pesquisa por possuir uma etapa robusta de seleção bibliográfica (por meio de Curadoria Manual) seguida de uma sequência de etapas que utilizam diferentes (e importantes) ferramentas de análise *in silico*, conforme descrito a seguir:

Passo 1: Pesquisa no *PUBMED* e seleção de artigos de revisão e experimentais;

Passo 2: Mineração de texto através de programas *online* gratuitos amigáveis;

Passo 3: Seleção de proteínas dos artigos experimentais abarcados;

Passo 4: Construção de rede por meio do *stringApp* no *Cytoscape*;

Passo 5: Análise topológica da rede por meio do *Network Analyzer* no *Cytoscape*;

Passo 6: Modularização da rede por meio do *MCODE*;

Passo 7: Construção das sub-redes dos módulos ou clusters encontrados no *Cytoscape* pelo *MCODE*;

Passo 8: Análise topológica por meio do *Network Analyzer* dos módulos ou *clusters* encontrados no *Cytoscape* pelo *MCODE*;

Passo 9: Enriquecimento de vias pelo *stringApp* das estruturas de GO e das vias em *KEGG* e *Reactome*;

Passo 10: Aplicação do *cytoHubba*, selecionando as proteínas com maior valor de gargalo selecionando as vinte melhores e com construção de sub-redes das proteínas selecionadas e reanálise topológica e funcional;



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

ANÁLISE *IN SILICO* DO PROCESSO DE REGENERAÇÃO CELULAR ATRAVÉS DA
INTERAÇÃO *PIWIPIRNA* EM *MUS MUSCULUS*
Isabele Pagani Pavan, Iris Moreira da Silva, Matheus Correia Casotti, Luana Santos Louro,
Thomas Erik Santos Louro, Elizeu Fagundes de Carvalho, Débora Dummer Meira, Iúri Drumond Louro

Passo 11: Seleção das melhores proteínas com base no grau e na centralidade de intermediação.

1.2 Construção e visualização da rede de interação proteína-proteína

Após a extração das consultas/dados de artigos no *PUBMED*, foi desenvolvida com as proteínas selecionadas uma rede de interação proteína-proteína (PPIN) por meio dos bancos de dados *online* do *STRING* versão 11.0 (<https://string-db.org>) através do *download* do aplicativo *stringApp* (versão 1.6.0; <https://apps.cytoscape.org/apps/stringapp>) no *software Cytoscape* (versão 3.8.2; <https://www.cytoscape.org/>), que possui uma variedade de *plug-ins* (aplicativos adicionais) relacionados à rede, utilizados para a visualização, análise e integração do usuário, para recuperar as interações previstas para os alvos. 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 iteradores 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.

1.2.1 Análise modular da rede de interação de proteínas e enriquecimento de vias

No estudo de redes se compreende que os *clusters* ou módulos são nós intimamente conectados em uma rede que se unem e formam uma sub-rede densa e com alta significância biológica, pois ajuda a obter informações detalhadas sobre as PPINs. Por isso, utilizou-se o *plug-in MCODE (Molecular COmplex DEtection)*, disponível no *software Cytoscape*, com uma pontuação para cada *cluster*. Os *clusters* são pontuados com base no tamanho e densidade - uma pontuação alta significa um *cluster* grande e denso, baseando-se em um “*haircut*”, “*fluff*”, “*node densitycutoff: 0.1*”, “*node score cutoff: 0.2*”, “*k-core: 2*” e um “*max. depth: 100*”.

Em paralelo, tendo os *clusters*, tornou-se possível uma análise da Ontologia Genética (GO) que serve ao propósito de validar o *cluster* que pertence a uma função específica. Assim, o enriquecimento de *clusters* ajuda a enriquecer as vias, fornecendo um número adicional de genes externos que não estão presentes no conjunto de dados. A análise GO fornece informações detalhadas sobre o processo biológico subjacente a esse *cluster*. E para essa análise de enriquecimento funcional do GO, foi utilizado o próprio *stringApp* para recuperar o enriquecimento abarcado pelo Banco de Dados do *STRING*. A análise ocorreu usando um valor de *p* limiar <0,05. E a análise estatística baseou-se no menor FDR (Taxa de Descoberta Falsa), que é um método de conceituar a taxa de erros do tipo I em testes de hipótese nula ao conduzir comparações múltiplas, a ser considerado na seleção da estrutura GO analisada, assim como em relação ao *KEGG* e ao *Reactome*.



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

ANÁLISE *IN SILICO* DO PROCESSO DE REGENERAÇÃO CELULAR ATRAVÉS DA INTERAÇÃO PIWIPIRNA EM *MUS MUSCULUS*
Isabele Pagani Pavan, Iris Moreira da Silva, Matheus Correia Casotti, Luana Santos Louro, Thomas Erik Santos Louro, Elizeu Fagundes de Carvalho, Débora Dummer Meira, Iúri Drumond Louro

1.2.2 Construção de PPINs, análise topológica e GO das proteínas de sementes selecionadas finais

A fim de tornar mais específica e detalhada a análise das redes, foi utilizado o *plug-in cytoHubba* (versão 0.1) do *software Cytoscape* (versão 3.8.1), com o intuito de explorar nós/*hubs* importante na rede por meio do Gargalo (BN). Seguiu-se como parâmetros, as dez melhores pontuações de gargalo e os menores coeficientes de agrupamento (coeficiente de correlação de *Pearson* inferior a 0.5). E, ao final, foi realizada novamente a análise de enriquecimento de vias dessas proteínas a serem selecionadas e depois classificadas por corte estatístico baseado na mediana para sugerir dados aos estudos posteriores de quimioinformática.

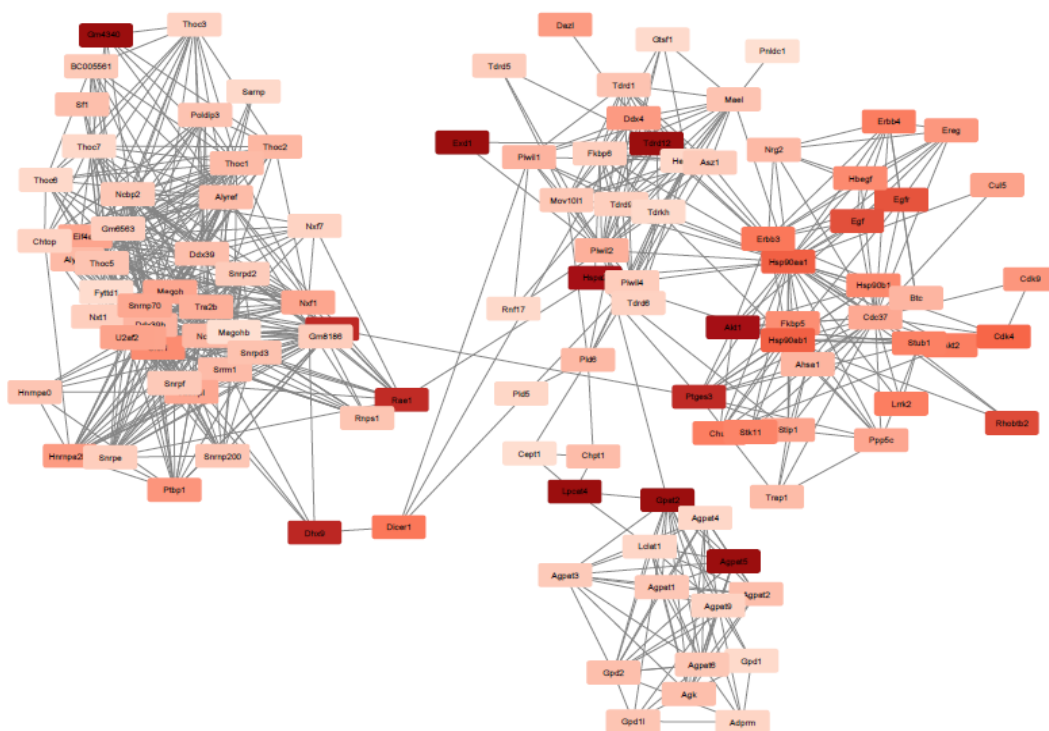
2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.1 Construção e resultado das redes de interação proteína-proteína (PPIN)

Nessa pesquisa, selecionou-se a espécie *Mus Musculus*, sendo uma espécie modelo de mamífero para pesquisas em regeneração celular (que possui uma boa capacidade de transposição para futuros estudos em seres humanos). Foram encontradas proteínas da respectiva espécie, cujos códigos de identificação foram obtidos pela base de dados *Uniprot*, e esses lançados no *Cytoscape* (utilizando o *stringApp*) para então construir a PPIN.

A rede principal de *M. musculus* foi construída com 17 proteínas, e como resultado obteve-se uma PPIN com 115 nós principais e 694 arestas (interatores), como visualizado nas figuras 1, 2, 3 e 4.

Figura 1 – Panorama geral da rede de interação proteína-proteína (PPIN) para *M. musculus*





RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

ANÁLISE *IN SILICO* DO PROCESSO DE REGENERAÇÃO CELULAR ATRAVÉS DA
INTERAÇÃO PIWIPIRNA EM *MUS MUSCULUS*

Isabele Pagani Pavan, Iris Moreira da Silva, Matheus Correia Casotti, Luana Santos Louro,
Thomas Erik Santos Louro, Elizeu Fagundes de Carvalho, Débora Dummer Meira, Iúri Drumond Louro

Figura 2 - Ampliação da rede de interação proteína-proteína (PPIN) para *M. musculus* (parte 1)

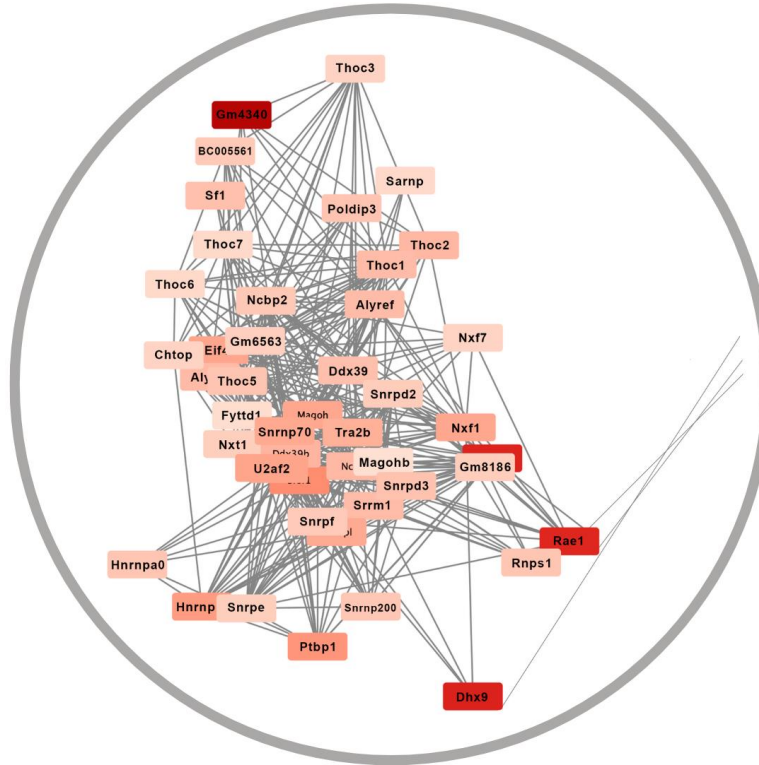
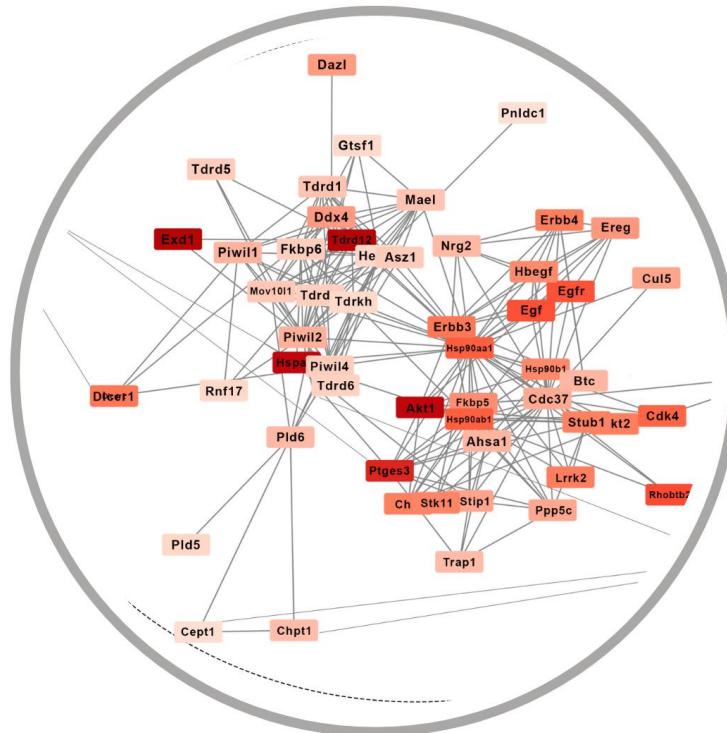


Figura 3 - Ampliação da rede de interação proteína-proteína (PPIN) para *M. musculus* (parte 2)

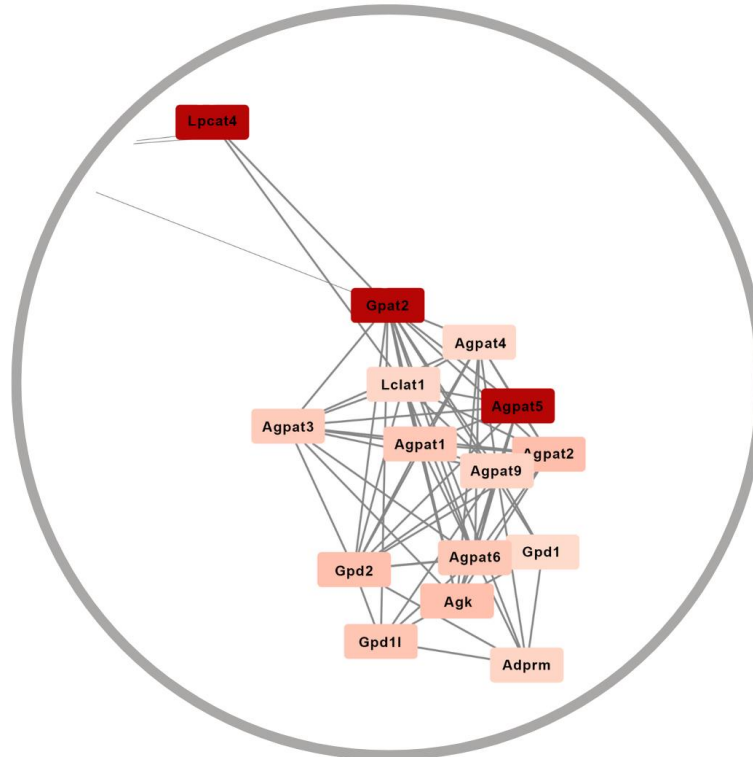




RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

ANÁLISE *IN SILICO* DO PROCESSO DE REGENERAÇÃO CELULAR ATRAVÉS DA INTERAÇÃO *PIWIPIRNA* EM *MUS MUSCULUS*
Isabele Pagani Pavan, Iris Moreira da Silva, Matheus Correia Casotti, Luana Santos Louro, Thomas Erik Santos Louro, Elizeu Fagundes de Carvalho, Débora Dummer Meira, Iúri Drumond Louro

Figura 4 - Ampliação da rede de interação proteína-proteína (PPIN) para *M. musculus* (parte 3)



Fonte: autoria própria, 2023

2.2 Parâmetros topológicos da Rede Principal

Assim, através do *plug-in Network Analyzer* se calculou os parâmetros topológicos básicos da PPIN, e a partir dessa análise, foram escolhidos o diâmetro da rede, o comprimento do caminho característico, o coeficiente de agrupamento e a heterogeneidade da rede, sendo os valores mais relevantes para compreender e verificar a veracidade da rede, ou seja, se a rede construída é uma rede biológica real encontrada nos indivíduos da espécie. Assim, os valores para a espécie foram extraídos do aplicativo, como demonstrado no quadro abaixo (Quadro 1).



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

ANÁLISE *IN SILICO* DO PROCESSO DE REGENERAÇÃO CELULAR ATRAVÉS DA INTERAÇÃO *PIWIPIRNA* EM *MUS MUSCULUS*
Isabele Pagani Pavan, Iris Moreira da Silva, Matheus Correia Casotti, Luana Santos Louro, Thomas Erik Santos Louro, Elizeu Fagundes de Carvalho, Débora Dummer Meira, Líri Drumond Louro

Quadro 1: Parâmetros Topológicos da Rede de Interação Proteína-Proteína Principal de *M. musculus*
 μ - Valor médio calculado pela média aritmética dos valores diferentes de zero.

Termos	Descrição Estatística
Grau	$\mu = 4$
Diâmetro da Rede	7
Comprimento do Caminho Característico	3,511
Coefficiente de Agrupamento	0,721
Heterogeneidade da Rede	0,642

Fonte: autoria própria, 2023

A rede demonstrou dados topológicos muito representativos de redes naturais biológicas, que tendem a ser altamente heterogêneas, uma vez que apresentam nós com grau de interação alto, todavia, sua maioria possui poucas interações com os nós vizinhos (Dong; Horvath, 2007), sendo esse o caso da rede construída neste trabalho, uma vez que seu valor de heterogeneidade é alto, para além de apresentar um número médio de grau baixo, indicando que a maioria dos nós são não *hubs* (apresentam número baixo de conexões com outros nós) (Doncheva *et al.*, 2012).

Constata-se um comprimento de caminho característico pequeno, significando a presença de poucas conexões de longa distância, em comparação com outros autores, e coeficiente de agrupamento alto e diâmetro pequeno indicando a propriedade de pequeno mundo (Malmersjöa *et al.*, 2012; Watts *et al.*, 1998), portanto, as proteínas aparentam possuir alta coesão e interação entre si.

2.3 Avaliação funcional da Rede Principal

Visando entender os parâmetros funcionais das redes, utilizou-se da análise de enriquecimento de vias através do *STRING: protein* do *stringApp* no *Cytoscape*, para avaliar vias funcionais associadas às respostas fisiológicas nos organismos escolhidos. Para evitar a representação de dados que não seriam de interesse, atrelou-se a um valor estatístico (FDR) que resume a probabilidade de a super-representação não ocorrer por acaso, obtendo-se os dados descritos no quadro 2.



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

ANÁLISE *IN SILICO* DO PROCESSO DE REGENERAÇÃO CELULAR ATRAVÉS DA
INTERAÇÃO PIWIPIRNA EM *MUS MUSCULUS*
Isabele Pagani Pavan, Iris Moreira da Silva, Matheus Correia Casotti, Luana Santos Louro,
Thomas Erik Santos Louro, Elizeu Fagundes de Carvalho, Débora Dummer Meira, Iúri Drumond Louro

Quadro 2 - Avaliação Funcional da Rede Principal

CATEGORIA	DESCRIÇÃO	FDR
GO Processo Biológico	Processos metabólicos de RNA (GO:0016070)	3,86EE-34
GO Componente Celular	Grânulo de ribonucleoproteína (GO:0035770)	7,33E-20
GO Função Molecular	Ligação com RNA (GO:0003723)	2,31E-41
Vias do <i>KEGG</i>	Spliceossoma (mmu03040)	2E-26
Vias do <i>Reactome</i>	Processamento de pré-RNA contendo íntron tampado (MMU-72203)	1,37E-47

Fonte: autoria própria, 2023

A análise do enriquecimento da via constatou seu papel central e intrincado no metabolismo do RNA. Especificamente, a participação dessa via está intimamente associada à função de piRNA como componente chave nos grânulos de ribonucleoproteína. Esses grânulos agem como centros de coordenação, reunindo uma variedade de proteínas que desempenham papéis críticos na regulação dos RNA correspondentes. Essa regulação inclui aspectos cruciais, como a localização subcelular dos RNA, sua estabilidade ao longo do tempo e até mesmo sua tradução eficiente em proteínas funcionais (European Bioinformatics Institute, 2023). Ademais, o envolvimento direto desses grânulos com RNA, através de interações complexas, realça ainda mais a importância molecular e funcional de piRNA nesse contexto.

Os resultados obtidos a partir das vias presentes nos bancos de dados KEGG e Reactome reforçam a significativa participação da via no metabolismo de RNA. Esse enriquecimento fica evidente na integração dessas vias em uma das estruturas mais notórias da maquinaria celular: o complexo Spliceossoma. Este complexo desempenha uma função vital na modulação dos RNAs após o processo de transcrição. Suas atividades de *splicing* e processamento são essenciais para a geração de múltiplas isoformas de RNA, que por sua vez influenciam a diversidade funcional das proteínas produzidas. Além disso, essas vias também desempenham um papel crucial no processamento dos pré-RNAs, representando uma etapa fundamental na produção de RNAs maduros e funcionais.



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

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

Isabele Pagani Pavan, Iris Moreira da Silva, Matheus Correia Casotti, Luana Santos Louro,
Thomas Erik Santos Louro, Elizeu Fagundes de Carvalho, Débora Dummer Meira, Líri Drumond Louro

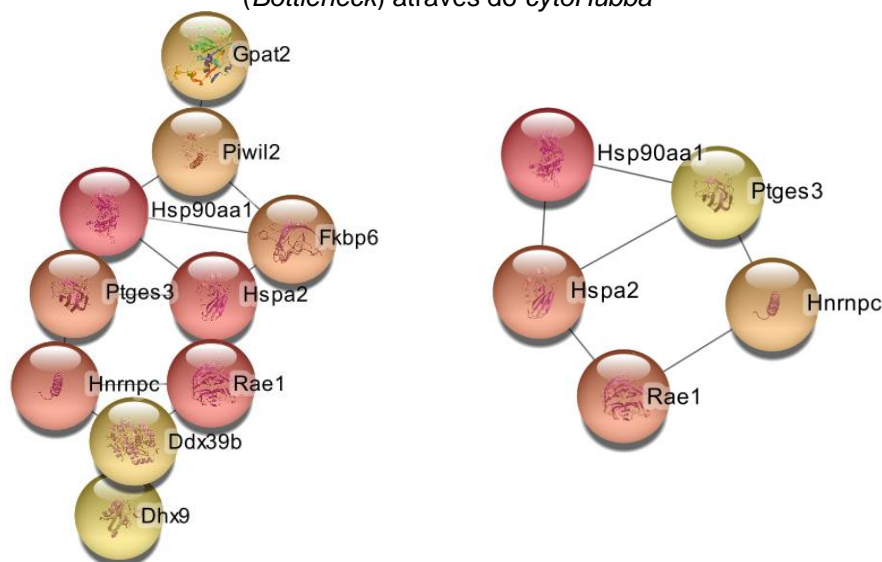
Tais resultados, que indicam a integração de *PIWI*/piRNA no controle translacional pré e pós-transcricional em células somáticas, estão alinhados com a compreensão atual da função dos pequenos RNAs não codificantes (piRNAs) e das proteínas associadas. Esses elementos desempenham um papel fundamental na orquestração da expressão gênica, garantindo que os RNAs sejam produzidos, processados e traduzidos de maneira precisa e regulada, de acordo com as necessidades celulares.

Em resumo, a análise aprofundada do enriquecimento da via, juntamente com a avaliação topológica, proporcionou uma visão mais clara das interações moleculares complexas que sustentam a regulação da expressão gênica em nível pós-transcricional. Essas descobertas ampliam nossa compreensão das estratégias celulares para ajustar a produção e o destino dos RNA, com implicações significativas para a função celular e a homeostase.

2.4 Seleção de proteínas relevantes da Rede Principal

Aprofundando a análise, a aplicação do aplicativo *CytoHubba* ofereceu uma abordagem sistemática para avaliar a importância e a centralidade dos nós na rede. Através de métricas topológicas como Grau (*Degree*) e Gargalo (*Bottleneck*), foi possível identificar os nós mais influentes. Como resultado, uma seleção das dez (*Degree*) e cinco (*Bottleneck*) proteínas mais proeminentes foi obtida, como demonstrado nas figuras 5 e 6.

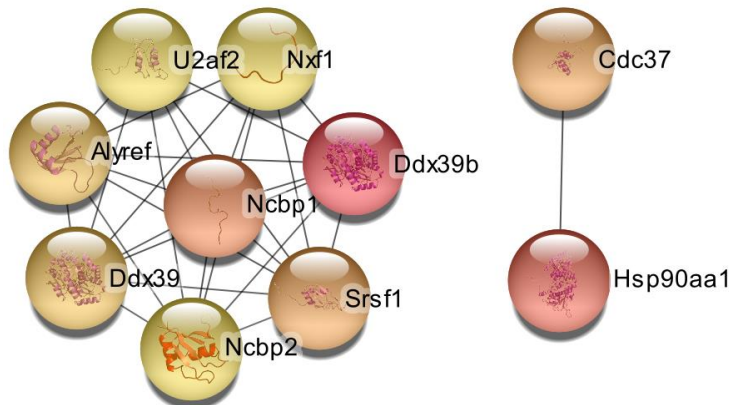
Figura 5: Seleção das 10 e 5 principais proteínas, respectivamente, de acordo com o Gargalo (*Bottleneck*) através do *cytoHubba*



Legenda: Realizada a coloração padrão do aplicativo *cytoHubba*, o qual se baseia em um ranqueamento com o RGB (255,0,0) - cor vermelha - representando o maior *rank*, enquanto o RGB (255,255,0) - cor amarela - significando o menor *rank*.

Fonte: autoria própria, 2023

Figura 6: Seleção das 10 principais proteínas de acordo com o Grau (*Degree*) através do *cytoHubba*.

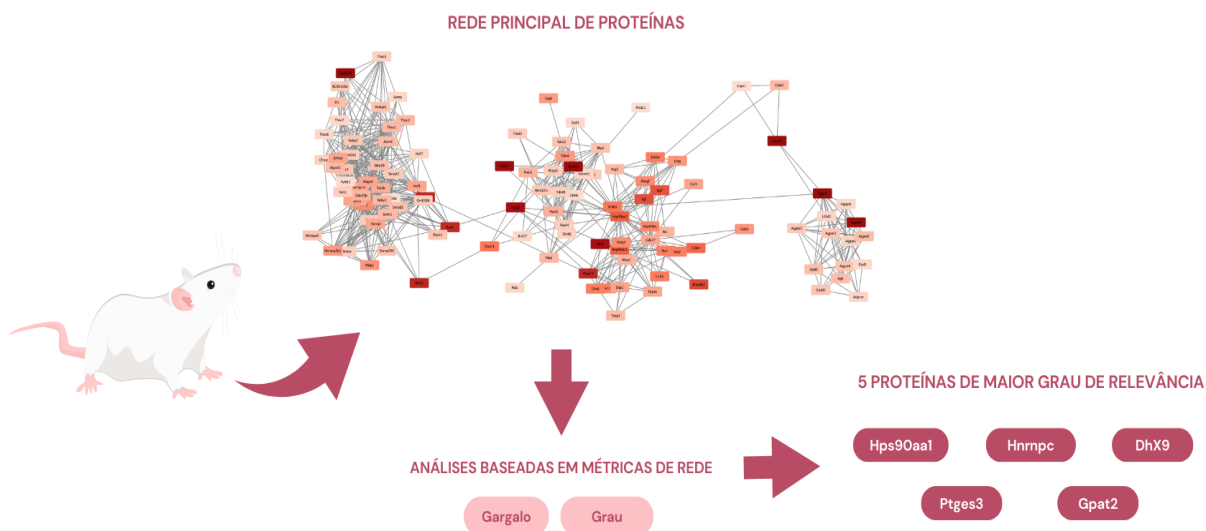


Legenda: Realizada a coloração padrão do aplicativo *cytoHubba* o qual se baseia em um ranqueamento com o RGB (255,0,0) - cor vermelha - representando o maior *rank*, enquanto o RGB (255,255,0) - cor amarela - significando o menor *rank*.

Fonte: autoria própria, 2023

Selecionaram-se as 5 proteínas de maior relevância de acordo com Gargalo e Grau, de forma a continuar a análise funcional das redes, algumas foram culminantes, tanto para um ranqueamento quanto para o outro: Hsp90aa1, Hnrnpc, DhX9, Ptges3 e Gpat2, como demonstrado na figura 7.

Figura 7: Resumo do processo de seleção das 5 proteínas mais relevantes na rede de *Mus musculus*.



Fonte: autoria própria, 2023

Em *Mus musculus*, Hsp90aa1 (proteína de choque térmico 90 alfa da família classe A membro 1) é um “acompanhante” molecular que promove a maturação, a manutenção estrutural e a regulação de proteínas-alvo envolvidas, por exemplo, no controle do ciclo celular e na transdução de sinal



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

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

Isabele Pagani Pavan, Iris Moreira da Silva, Matheus Correia Casotti, Luana Santos Louro,
Thomas Erik Santos Louro, Elizeu Fagundes de Carvalho, Débora Dummer Meira, Líri Drumond Louro

extracelular (UniprotKb, 2023), função que vai ao encontro da notória intervenção da via de *PIWI*/piRNA na comunicação célula-célula.

Notoriamente, a regeneração celular envolve uma combinação de processos, incluindo proliferação celular, diferenciação, migração celular e remodelação do tecido. Fatores de crescimento, sinalização celular e a expressão de certos genes desempenham papéis cruciais na regulação desses processos. Sabe-se que os mecanismos de controle do ciclo celular são primordiais para que a replicação da célula seja feita primorosamente e permita que a mesma continue replicando, possibilitando assim a regeneração celular dos variados tecidos que encontramos em mamíferos, para além, claro, da comunicação extracelular, essencial para orientar as células durante o crescimento, o desenvolvimento e o reparo celular. Portanto, a proteína Hsp90aa1, ao realizar suas funções supracitadas, ampara todo esse processo.

Já Hnrnpc (ribonucleoproteína nuclear heterogênea C) é uma proteína envolvida na via de mRNA e participa também de controles de tradução e transporte de RNA dentro da célula e DhX9 (ou Helicase multifuncional de ácido nucleico dependente de ATP) desenrola o DNA e o RNA na direção 3' para 5' e desempenha papéis importantes em muitos processos, como replicação do DNA, ativação transcricional, regulação pós-transcricional do RNA, tradução do mRNA e silenciamento de genes mediado por RNA (UniprotKb, 2023). Ambas as proteínas se relacionam, portanto, com a função já conhecida da via *PIWI*/piRNA e expressa na avaliação funcional descrita no quadro 2 deste estudo, podendo, também, serem apontadas como proteínas centrais da via, devido a fortes interações com demais participantes moleculares.

A enzima Ptges3, também conhecida como Prostaglandina Sintase Citosólica, exerce um papel crucial como chaperona molecular, posicionando-se estrategicamente nos elementos de resposta genômica. Sua localização é estritamente dependente de estímulos hormonais, desempenhando um papel fundamental na modulação da ativação transcricional mediada por receptores. Um dos aspectos notáveis de sua função é a sua habilidade de interromper os processos de ativação transcricional, contribuindo, assim, para a regulação finamente ajustada da expressão gênica (UniprotKb, 2023). Um dos efeitos intrigantes da Ptges3 é a sua capacidade de catalisar a desmontagem de complexos reguladores transcricionais. Ao fazer isso, ela exerce um controle crucial sobre a maquinaria genética, permitindo uma resposta rápida e coordenada a mudanças no ambiente ou no estado celular. Essa função de "interruptor molecular" é particularmente relevante em situações em que as respostas adaptativas são essenciais para a sobrevivência e homeostase.

Além disso, é interessante notar que a proteína Gpat2 desempenha um papel vital na etapa primária do processamento durante a complexa rota de biossíntese de piRNA. Esses pequenos RNAs desempenham um papel fundamental na regulação dos elementos genéticos transponíveis, assegurando a estabilidade e integridade do genoma (UniprotKb, 2023). No entanto, os mecanismos moleculares subjacentes através dos quais Gpat2 facilita a biossíntese de piRNA permanecem em grande parte um mistério, desafiando os pesquisadores a aprofundar sua compreensão. Concebendo



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

ANÁLISE *IN SILICO* DO PROCESSO DE REGENERAÇÃO CELULAR ATRAVÉS DA INTERAÇÃO PIWIPIRNA EM *MUS MUSCULUS*
Isabele Pagani Pavan, Iris Moreira da Silva, Matheus Correia Casotti, Luana Santos Louro, Thomas Erik Santos Louro, Elizeu Fagundes de Carvalho, Débora Dummer Meira, Iúri Drumond Louro

a relevância das informações retiradas da análise das proteínas proeminentes da rede principal, resumiu-se os principais resultados no organograma da figura 8.

Figura 8: Resumo dos papéis principais desenvolvidos pelas proteínas selecionadas



Fonte: autoria própria, 2023

3 CONCLUSÕES

Podemos considerar que as proteínas selecionadas de acordo com a relevância apresentada evidenciam os papéis regulatórios tanto epigenéticos, como no processamento pré e pós transcricional de RNAs e no silenciamento gênico (ao promoverem a ligação de outros RNAs nos complexos de tradução), quanto não epigenéticos, ao exportarem RNAs do núcleo, manterem a conformidade estrutural de diversas moléculas que também fazem parte da via de RNA e na manutenção da integridade molecular de outras proteínas. Portanto, participam ou interagem em mecanismos regulatórios importantes do ciclo celular, fundamentais para a proliferação celular e, conseqüentemente, a regeneração de tecidos, o correto funcionamento do aparelho da célula no que concerne à conservação da qualidade de seus transcritos e a proteção quanto aos mecanismos que possam prejudicar as vias transcricionais, acarretando problemas de desempenho celular, como os próprios *transposons*, participando, dessa forma, em atividades reparativas intracelulares.

Os resultados também reafirmam a influência dessa via na regulação de marcadores moleculares importantes, assim como na modulação genética, contribuindo para a diferenciação das células especializadas, como no caso do tecido nervoso, além do *knockout* de alguns piRNA influenciar comportamentalmente *Mus musculus* (Sato *et al.*, 2023), também na regeneração de axônios e após lesões neuronais (Kim, 2019; Sato *et al.*, 2023). Em diversas doenças neurodegenerativas, como Alzheimer, Parkinson e Síndrome de Rett, sendo na doença de Alzheimer a regulação positiva de certos piRNA e a regulação negativa são determinantes para a prospecção da longevidade do paciente, outros piRNAs que se encontram desregulados nesses indivíduos surgem como potenciais biomarcadores



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

ANÁLISE *IN SILICO* DO PROCESSO DE REGENERAÇÃO CELULAR ATRAVÉS DA
INTERAÇÃO *PIWI*/PIRNA EM *MUS MUSCULUS*
Isabele Pagani Pavan, Iris Moreira da Silva, Matheus Correia Casotti, Luana Santos Louro,
Thomas Erik Santos Louro, Elizeu Fagundes de Carvalho, Débora Dummer Meira, Iúri Drumond Louro

para Alzheimer e Parkinson, tendo papel na sua progressão, mais um indício da importância da influência da via na regeneração celular no tecido nervoso (Kim, 2019; Sato *et al.*, 2023).

Porém, atentando-nos à discrepância entre o papel na linha germinativa e em células somáticas conforme avançamos na “escala filogenética”: as proteínas aparentam ter mais funções somáticas quando analisamos suas interações em uma espécie de mamífero, sugerindo que ao longo do processo de evolução essa via tornou-se mais relevante fora da linhagem germinativa, podendo ter relevância na diminuição da capacidade regenerativa nos animais superiores. Uma vez que sugerimos tal mudança na atuação da via de *PIWI*/piRNA, infere-se que ela está associada com a diminuição da capacidade regenerativa, e, dessa maneira, surgem importantes questionamentos: a) Quais direcionamentos evolutivos atuaram para que essa adaptação ocorresse? b) Dado que a expressão de *PIWI* em animais basais está diretamente relacionada com as elevadas taxas de regeneração celular, em qual momento *PIWI* (e seus homólogos) e suas proteínas (também homólogas), que foram conservadas desde poríferos até os mamíferos mais apicais, como já estabelecido, adaptou-se para manter a célula em funcionamento ao invés de replicá-la com vigor?

Podemos também inferir que tal processo acompanhou o aumento da complexidade dos tecidos, tendo em vista o que sabemos sobre a relação inversamente proporcional sobre a diferenciação de uma célula e sua capacidade de replicação, mas essas perguntas nos levam a uma exploração das complexas trajetórias evolutivas que moldaram essa mudança na função do sistema *PIWI*/piRNA ao longo do tempo. Para compreender essas adaptações, devemos investigar a pressão seletiva e os eventos genéticos que ocorreram durante a evolução, bem como examinar as vantagens adaptativas que podem ter levado a essa mudança na função, e este entendimento pode tornar a escolha dos alvos moleculares ainda mais contundente.

Ao encontro desta análise, temos a teoria do Mundo de RNA (“*RNA World*”), que sugere que em um estágio inicial da evolução da vida, antes da existência das moléculas de DNA e proteínas, as moléculas de RNA desempenharam um papel fundamental como os principais agentes catalisadores químicos e portadores de informações genéticas (Naqvi *et al.*, 2009). Embora o mundo atual seja dominado por DNA e proteínas, as evidências de que o RNA pode agir como molécula catalítica e como portadora de informações genéticas nos fornecem *insights* valiosos sobre os processos evolutivos. A relação entre o *PIWI*/piRNA e a teoria do Mundo de RNA reside no fato de que o piRNA, desempenha papéis fundamentais na regulação genética e na manutenção da estabilidade do genoma, características cruciais para a evolução e sobrevivência dos organismos, e nosso estudo *in silico* é deveras importante, podendo ser mais uma evidência a corroborar com essa teoria.

Torna-se relevante, portanto, explorar a interconexão entre o piRNA, as modulações do gene *PIWI* e as proteínas mencionadas, além de elucidar os mecanismos bioquímicos que orquestram suas respostas e atividades, permitirão não apenas uma visão mais clara das bases moleculares das doenças degenerativas, mas também a identificação de alvos terapêuticos altamente específicos e eficazes. Em síntese, a continuidade dos estudos sobre as implicações das modulações do gene *PIWI*



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

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

Isabele Pagani Pavan, Iris Moreira da Silva, Matheus Correia Casotti, Luana Santos Louro,
Thomas Erik Santos Louro, Elizeu Fagundes de Carvalho, Débora Dummer Meira, Iúri Drumond Louro

nas proteínas Hsp90aa1, Hnrnpc, DhX9, Ptges3 e Gpat2 se mostra como um passo crucial em direção ao desvendar das vias moleculares que regem as doenças degenerativas, principalmente no que concerne às doenças do sistema nervoso central (SNC).

4 CONSIDERAÇÕES

Nesse contexto, é crucial destacar que os alvos moleculares que foram minuciosamente elucidados e detalhados no âmbito deste estudo possuem uma relevância científica e médica abrangente. Essa relevância transcende as fronteiras da pesquisa em si, uma vez que esses alvos representam padrões moleculares intrínsecos que estão presentes em um espectro diversificado de células somáticas. Esse amplo espectro de presença molecular abre portas para explorar novos alvos moleculares, visando o tratamento de uma vasta gama de enfermidades que impactam negativamente a capacidade regenerativa dos tecidos em mamíferos.

Não obstante, estamos imersos em uma era que caminha rapidamente em direção à medicina personalizada e de alta precisão. Nesse paradigma, os alvos terapêuticos assumem uma característica singular, tornando-se específicos. Consequentemente, a jornada em busca desses novos alvos torna-se igualmente específica e focalizada e é crucial notar que a especificidade desses alvos terapêuticos se alinha harmoniosamente com a busca por tratamentos altamente direcionados e eficazes.

Neste estudo, verificou-se na avaliação funcional da rede principal da via do gene *PIWI*/piRNA (e suas proteínas acessórias mais relevantes: Hsp90aa1, Hnrnpc, DhX9, Ptges3 e Gpat2) que possuem destaque os processos metabólicos de RNA, grânulo de ribonucleoproteína, ligação com RNA, Spliceossoma e processamento de pré-RNA (*Processing of Capped Intron-Containing Pre-mRNA*), processos estes que estão envolvidos na geração da diversidade de proteínas através do processamento de RNA (tendo influência direta no *Splicing*). Ressaltamos também mecanismos importantes na manutenção da estrutura e função das proteínas e, dessa maneira, este estudo sugere importância adicional da via *PIWI*/piRNA na função regulatória e no controle da expressão gênica, assim como sua influência na estabilidade do genoma e na manutenção da regeneração (que é um processo muito importante, principalmente no SNC, pois várias doenças neurológicas cursam com degeneração do SNC).

Logo, sugere-se que essa via (e suas proteínas principais) possui importância fundamental em *Mus musculus* e este conhecimento, no futuro, poderá ser traduzido para seres humanos, assim como verificar essa importância na estabilidade do genoma e na manutenção da regeneração do SNC. Sendo assim, destaca-se que entender melhor a via *PIWI*/piRNA e como ela pode ser modulada influenciará na descoberta de novos fármacos que possam estar atuando nessas vias e, consequentemente, prevenir ou tratar várias desordens mentais que cursam com esta perda funcional da manutenção da regeneração. Além de proporcionar *insights* valiosos, essa pesquisa pode pavimentar o caminho para a descoberta de alvos terapêuticos inovadores e abordagens farmacológicas que venham a aprimorar o tratamento dessas condições médicas complexas que, apesar dos avanços tecnológicos, continuam



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR ISSN 2675-6218

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

Isabele Pagani Pavan, Iris Moreira da Silva, Matheus Correia Casotti, Luana Santos Louro,
Thomas Erik Santos Louro, Elizeu Fagundes de Carvalho, Débora Dummer Meira, Iúri Drumond Louro

incompreensíveis e com poucos tratamentos eficazes disponíveis. No entanto, é imperativo reconhecer que, para avançar na compreensão da via de PIWI/piRNA em cenários que envolvem linhagens de células cancerígenas e a regeneração celular, estudos *in vitro* se fazem necessários. A investigação meticulosa desses mecanismos específicos relacionados às proteínas alvo delineadas neste estudo emergirá como um próximo passo essencial. Ao mergulhar nessa exploração, seremos capazes de lançar luz sobre os processos que governam a interação entre as vias moleculares em questão e os estados patológicos e regenerativos, ampliando, assim, nossa compreensão do potencial terapêutico dessas descobertas.

REFERÊNCIAS

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

COLTRI, Patricia Pereira. Caracterização de proteínas do spliceossomo e seu papel na regulação do splicing e alterações celulares. [S. l.: s. n.], 2021.

EUROPEAN BIOINFORMATICS INSTITUTE - QuickGO - Definition (GO:0035770 GONUTS page). Disponível em: <https://www.ebi.ac.uk/QuickGO/term/GO:0035770>. Acesso em: 8 set. 2023.

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.

KASHIMA, Makoto; AGATA, Kiyokazu; SHIBATA, Norito. What is the role of PIWI family proteins in adult pluripotent stem cells? Insights from asexually reproducing animals, planarians. **Development, Growth & Differentiation**, v. 62, n. 6, p. 407-422, 2020.

KIM, K. W. PIWI Proteins and piRNAs in the Nervous System. **Mol. Cells, Seoul**, v. 42, p. 828-835, 2019.

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, n. 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.



RECIMA21 - REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR
ISSN 2675-6218

ANÁLISE *IN SILICO* DO PROCESSO DE REGENERAÇÃO CELULAR ATRAVÉS DA
 INTERAÇÃO PIWIPIRNA EM *MUS MUSCULUS*

Isabele Pagani Pavan, Iris Moreira da Silva, Matheus Correia Casotti, Luana Santos Louro,
 Thomas Erik Santos Louro, Elizeu Fagundes de Carvalho, Débora Dummer Meira, Iúri Drumond Louro

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.

TAVERNA, Simona; MASUCCI, Anna; CAMMARATA, Giuseppe. PIWI-RNAs Small Noncoding RNAs with Smart Functions: Potential Theranostic Applications in Cancer. **Cancers**, v. 15, n. 15, p. 3912, 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.

UNIPROT. **UniProtKB:** P07901 . HS90A_MOUSE. Disponível em:
<https://www.uniprot.org/uniprotkb/P07901/entry>. Acesso em: 8 set. 2023.

UNIPROT. **UniProtKB:** Q14DK4 . GPAT2_MOUSE. Disponível em:
<https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q14DK4/entry>. Acesso em: 8 set. 2023.

UNIPROT. **UniProtKB:** Q9R0Q7 . TEBP_MOUSE. Disponível em:
<https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q9R0Q7/entry>. Acesso em: 8 set. 2023.

UNIPROT. **UniProtKB:** Q9Z204 . HS90A_MOUSE. Disponível em:
<https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q9Z204/entry>. Acesso em: 8 set. 2023.

WAKISAKA, K. T., IMAI, Y. The dawn of piRNA research in various neuronal disorders, *Frontiers In Bioscience*, **Landmark**, Kyoto, v. 24, p. 1440-1451, 2019.

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

XU, C.; SUN, S. Expression of Piwi Genes during the Regeneration of *Lineus sanguineus* (Nemertea, Pilidiophora, Heteronemertea). **GENES**, Basel, v. 11, n. 12, 2020.