

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO

Curso de Biomedicina

Livia de Oliveira Silva

Samara Righi Curi

**A RELAÇÃO DOS MicroRNAs COM AS VIAS DA SENESCÊNCIA
CELULAR**

São Paulo

2023

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO

Livia de Oliveira Silva

Samara Righi Curi

**A RELAÇÃO DOS MicroRNAs COM AS VIAS DA SENESCÊNCIA
CELULAR**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Biomedicina
do Centro Universitário São Camilo,
orientado pelo Prof. Dr. Fábio Mitsuo
Lima, como requisito parcial para
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

São Paulo

2023

Ficha catalográfica elaborada pelas Bibliotecas São Camilo

Silva, Lívia de Oliveira

A relação dos MicroRNAs com as vias da senescência celular / NOME
Lívia de Oliveira Silva, Samara Righi Curi. -- São Paulo: Centro
Universitário São Camilo, 2023.
58 p.

Orientação de Fábio Mitsuo Lima.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro
Universitário São Camilo, 2023.

1. Fenótipo secretor associado à senescência 2. Genes p16 3. Genes
p53 4. MicroRNAs 5. Senescência celular I. Curi, Samara Righi II. Lima,
Fábio Mitsuo III. Centro Universitário São Camilo IV. Título

CDD: 574.87

Dedicamos este trabalho a nossa família e aos
profissionais de saúde e pesquisadores, por
difundirem seus conhecimentos e experiências

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Sandra e Wagner, e minha irmã, Letícia, por serem meu porto seguro durante toda essa caminhada me dando autoconfiança, sempre me incentivando e acreditando na minha capacidade, sou eternamente grata por estarem ao meu lado os momentos da minha vida, amo vocês.

Agradeço ao professor e orientador Prof. Dr. Fábio Mitsuo Lima, por todos os conhecimentos transmitidos a nós e pelo apoio durante o curso e a escrita deste trabalho e outros. Às professoras e professores que compartilharam todas as suas experiências, conhecimentos e sabedorias profissionais e de vida, que contribuíram para minha graduação.

E agradeço as minhas amigas, que conheci durante a graduação e se tornaram minhas colegas de trabalho, em especial a minha dupla, Samara, muito obrigada amiga por todas as vivências, ao apoio nos momentos de desespero e as diversas trocas que tivemos tanto na jornada de escrita como durante o estágio, muito obrigada!

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha eterna gratidão a minha mãe e minha irmã pelo apoio incondicional e pela compreensão, foram os pilares essenciais durante minha jornada acadêmica. Agradeço também a instituição e ao orientador Fábio Mitsuo que foi responsável por me fazer gostar mais da área por meio de suas aulas, e por ter sido fundamental para o desenvolvimento deste trabalho. Também gostaria de agradecer aos amigos que me acompanharam durante a jornada, e a Lívia por ter feito parte desse momento tão importante e sido responsável por tantos momentos alegres e divertidos, obrigada por fazer parte de uma memória que será essencial para a minha vida. Muito obrigada.

Samara Righi Curi

“Estou entre aqueles que pensam que a ciência tem uma grande beleza”

– Marie Curie

RESUMO

Introdução: A senescência celular foi demonstrada em estudos por Hayflick e Moorhead em 1961. Ao longo dos anos, após a sua descoberta, as principais vias foram elucidadas, como as vias da p53 e p16, supressoras de tumor e responsáveis pela manutenção da homeostase. Devido a importância das vias no mecanismo de regulação celular, foram identificadas relações com RNAs não codificantes, sendo esses descobertos na segunda metade do século XX. A partir disso, foi analisada a ação dos microRNAs (miRNAs) em vias como a p53 e p16, e foi observado como em determinados tecidos pode haver a ação de diferentes tipos de miRNAs, sendo que cada um pode agir em diversos RNAs mensageiros dentro da célula.

Objetivo: Realizar uma pesquisa bibliográfica em banco de dados e bibliotecas, a fim de discutir, analisar e relacionar a importância dos miRNAs para a regulação gênica no processo de senescência celular e como isso afeta as vias supressoras de tumor.

Metodologia: Foi realizada uma revisão bibliográfica narrativa a partir de artigos publicados nas línguas português, inglês e espanhol que foram encontrados nos bancos de dados PubMed, Scielo, Google Acadêmico e Biblioteca Virtual em Saúde, publicados no período de 2008 até 2023. As palavras-chaves utilizadas na pesquisa foram “Senescência celular”, “microRNA”, “SASP”, “Biogênese”, “p53”, “p16”. A fundação teórica também foi obtida por livros, teses e mais referências indicadas pelo orientador.

Desenvolvimento: A senescência celular é determinada como a parada do ciclo celular por algum fator, o que leva a célula a ter atividade, mas não se multiplicar. Dessa forma, entende-se que ela é um fenótipo complexo e multifatorial que se inicia no nascimento do ser humano e não pode ser parado. É estabelecido que a senescência celular é essencial para a homeostase, pois está relacionada principalmente com a supressão tumoral, contudo, ao decorrer dos anos, os organismos humanos passam a ter um acúmulo de células senescentes, o que levam a patologias características da senescência, como o câncer, por distúrbio deste mecanismo de supressão tumoral. Diversos estímulos podem levar a este processo de senescência celular, por isso, foram definidos tipos de senescência que são a replicativa e a induzida por estresse. Este estresse, leva a uma ativação de vias de sinalização que induzem a senescência, como as vias da p53 e p16INK2a, que são as principais. Ao descrever sobre senescência é essencial abordar o controle da expressão gênica, onde o principal desta revisão são os miRNAs que são pequenas sequências de RNA não codificantes capazes de atingir RNA mensageiros (mRNA) alvos com objetivo de silenciar mRNA.

Conclusão: Para se desvendar a senescência celular é essencial relacioná-la aos miRNAs envolvidos, além de entender outros miRNAs e sua ligação a estímulos que podem levar a senescência, como o SASP (fenótipo secretor associado a senescência). Assim, a perspectiva futura é desvendar melhor a forte relação entre os miRNAs e a senescência celular, para também aplicar com efetividade nas patologias, como no câncer e na predisposição a doenças por mutações genéticas. Portanto, mais estudos na área surgem com a intenção de aumentar o conhecimento sobre a relação e sua aplicação a saúde humana.

Palavras-chave: Senescência celular; microRNA; SASP; Biogênese; p53; p16.

ABSTRACT

Introduction: Cellular senescence was demonstrated in studies by Hayflick and Moorhead in 1961. Over the years, after its discovery, the main pathways were elucidated, such as the p53 and p16 pathways, tumor suppressors and responsible for maintaining homeostasis. Due to the importance of the pathways in the cellular regulation mechanism, relationships with non-coding RNAs were identified, which were discovered in the second half of the 20th century. From this, the action of miRNAs in pathways such as p53 and p16 was analyzed, and it was observed how in certain tissues there may be the action of different types of microRNAs, with each miRNA being able to act on different messenger RNAs within the cell.

Objective: To carry out a bibliographical search in databases and libraries, in order to discuss, analyze and relate the importance of miRNAs for gene regulation in the process of cellular senescence and how this affects tumor suppressor pathways.

Methodology: A narrative bibliographic review was carried out based on articles published in Portuguese, English and Spanish that were found in the PubMed, Scielo, Google Scholar and Virtual Health Library databases, published between 2008 and 2023. The keywords used in the research were “Cellular Senescence”, “microRNA”, “SASP”, “Biogenesis”, “p53”, “p16”. The theoretical foundation was also obtained through books, theses and other references indicated by the advisor.

Development: Cellular senescence is determined as the arrest of the cell cycle by some factor, which causes the cell to be active, but not to multiply. Therefore, it is understood that it is a complex and multifactorial phenotype that begins at human birth and cannot be stopped. It is established that cellular senescence is essential for homeostasis, as it is mainly related to tumor suppression. However, over the years, human organisms begin to have an accumulation of senescent cells, which leads to pathologies characteristic of senescence, such as cancer, due to a disturbance in this tumor suppression mechanism. Various stimuli can lead to this process of cellular senescence, therefore, types of senescence have been defined, which are replicative and induced by stress, which can be physical or chemical. This stress leads to the activation of signaling pathways that induce senescence, such as the p53 and p16INK2a pathways, which are the main ones. When describing senescence, it is essential to address the control of gene expression, where the main focus of this review are miRNAs, which are small non-coding RNA sequences capable of reaching messenger RNA (mRNA) targets with the aim of silencing mRNA.

Conclusion: To unravel cellular senescence, it is essential to relate it to the miRNAs involved, in addition to understanding other miRNAs and their connection to stimuli that can lead to senescence, such as SASP (senescence-associated secretory phenotype). Thus, the future perspective is to better unravel the strong relationship between miRNAs and cellular senescence, to also effectively apply it to pathologies, such as cancer and predisposition to diseases due to genetic mutations. Therefore, more studies in the area are emerging with the intention of increasing knowledge about the relationship and its application to human health.

Keywords: Cellular senescence; microRNA; SASP; Biogenesis; p53; p16.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Domínios da p53 com os nucleotídeos.....	22
Figura 2 – O desequilíbrio dos níveis da p53 e da sua ativação, que a deixa estabilizada, levam associação a genes alvos que induzem senescência, apoptose ou reparo, acontecendo a parada do ciclo.....	24
Figura 3 – A proteína p16 é ativada após o estímulo de EROs, forma o complexo CDK4 ou CDK6 com a Ciclina D, levando a ativação da pRb, e assim, a parada do ciclo celular.....	26
Figura 4 – Localização dos LncRNAs em relação a genes codificadores de proteínas.....	28
Figura 5 – Diferentes interações entre lncRNAs e microRNAs.(A) Os lncRNAs atuam como esponjas de microRNAs; (B) Os microRNAs podem surgir a partir do lncRNA; (C) Os microRNAs podem degradar o lncRNA; (D) Pode haver competição entre os microRNAs e lncRNAs pelo sítio alvo do mRNA.....	29
Figura 6 – Participação do lncRNA na regulação da expressão gênica. Muitos tipos de controles de lncRNA podem ocorrer para regular a expressão gênica.....	30
Figura 7 – Demonstração da origem do siRNA e de como atua silenciando/inibindo o mRNA específico.....	31
Figura 8 – Demonstração da biogênese dos circRNAs a partir de um pré-mRNA.....	32
Figura 9 – Transcrição das regiões intrônicas e intergênicas.....	36
Figura 10 – Via Canônica.....	37
Figura 11 – Processamento do pre-miRNA no complexo RISC.....	38
Figura 12 – A sequência altamente conservada do miRNA está localizada do nucleotídeo 2-8 na região 5' e há a complementaridade da região com o mRNA alvo.....	38

Figura 13 – Nas vias não canônicas, pequenos hairpin RNA (shRNA) são inicialmente clivados pelo complexo DROSHA/DGCR8. A biogênese não canônica pode ser dividida em vias independentes de DROSHA/DGCR8 e independentes de DICER.....	40
Figura 14 – miRNAs que agem na p53 e p21.....	44
Figura 15 – Principais miRNAs estudados que interferem na via p16.....	45
Figura 16 – Demonstração dos miRNAs que realizam a regulação indireta.....	46
Figura 17 – miRNAs que agem com SASP.....	47

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVO	17
3	METODOLOGIA.....	18
4	SENESCÊNCIA CELULAR.....	19
4.1	SENESCÊNCIA REPLICATIVA.....	20
4.2	SENESCÊNCIA INDUZIDA POR ESTRESSE	21
4.3	VIAS DE SINALIZAÇÃO.....	23
4.3.1	Via da p53	23
4.3.2	Via da p16INK2a	26
5	RNAs NÃO CODIFICANTES (<i>ncRNAs</i>)	27
5.1	RNAs NÃO CODIFICANTES LONGOS (<i>lncRNAs</i>)	28
5.2	RNAs curtos de interferência (<i>siRNAs</i>).....	31
5.3	RNAs circulares exônicos (<i>circRNA</i>).....	33
6	O QUE SÃO OS <i>microRNAs</i>	34
6.1	NOMENCLATURA DOS <i>microRNAs</i>	35
6.2	BIOGÊNESE DOS <i>miRNAs</i>	36
6.2.1	Transcrição e processamento celular da biogênese canônica.....	37
6.2.2	Processamento citoplasmático	38
6.2.3	Via não canônica Transcrição e processamento celular da biogênese não canônica .	40
6.3.	MECANISMOS DE AÇÃO	41
6.4.	MECANISMO DE TRANSPORTE DE <i>miRNAs</i>	42
7	RELAÇÃO DOS <i>microRNAs</i> E SENESCÊNCIA CELULAR	43
7.1	<i>miRNAs</i> ENVOLVIDOS NA VIA p53.....	44
7.2	<i>miRNAs</i> ENVOLVIDOS NA VIA p16.....	45
7.3.	<i>miRNAs</i> FORA DAS VIAS PRINCIPAIS DA SENESCÊNCIA CELULAR	47
8	<i>microRNAs</i>, SENESCÊNCIA CELULAR E SUA RELAÇÃO COM O CÂNCER	48
9	CONCLUSÃO.....	51
	REFERÊNCIAS.....	52

1 INTRODUÇÃO

A senescência celular foi demonstrada em estudos por Hayflick e Moorhead em 1961, e corresponde a uma sequência de eventos que antecede a morte celular, que pode ser ocasionada devido ao encurtamento dos telômeros ou estresse celular. Ao longo dos anos, após a descoberta da senescência, as principais vias foram elucidadas, como a via da p53 e p16, supressoras de tumor e responsáveis pela manutenção da homeostase (Esteireiro, 2013).

Devido a importância das vias no mecanismo de regulação celular, foram identificadas relações com RNAs não codificantes, sendo esses descobertos na segunda metade do século XX, a partir de estudos sobre o genoma humano, em que foi observado diversos tipos de RNAs, com funções que vão desde a regulação da expressão até a modificação da cromatina (Rossi; Gorospe, 2020); (Hombach; Kretz, 2016)

A partir do final da década de 1980, houve a descoberta dos RNAs curtos não codificantes por meio de pesquisas com *Caenorhabditis elegans*. Os microRNAs (miRNAs) foram um dos achados da pesquisa e contribuíram para a compreensão do mecanismo de regulação de genes a partir da supressão da tradução ou degradação do RNA mensageiro (mRNA). Além disso, sua descoberta contribuiu para o entendimento da senescência celular, visto que podem regular as principais vias. (Rossi; Gorospe, 2020).

Os miRNAs contém de 18 a 25 nucleotídeos e são codificados em regiões intergênicas, ou seja, regiões em que normalmente os RNAs codificantes não são codificados. A partir do surgimento do pri-miRNA até o miRNA maduro, há a participação de enzimas importantes como o complexo RISC em que contribui para guiar o miRNA até o mRNA alvo. A ligação ao mRNA alvo pode fazer com que haja a clivagem ou inativação do mesmo (Bhaskaran; Mohan, 2014); (Jorge *et al.*, 2021).

A partir disso, foi analisada a ação dos miRNAs em vias como da p53 e da p16, e foi observado como em determinados tecidos pode haver a ação de diferentes tipos de miRNAs, sendo que cada um pode agir em diversos mRNAs dentro da célula (Jorge *et al.*, 2021).

Portanto, a importância dos miRNAs é fundamental no estudo da senescência celular, visto que sua superexpressão ou sub-expressão em tecidos pode estar associada à progressão do envelhecimento. Além de que, pode ser um importante biomarcador para a observação da alteração da homeostase antes mesmo da observação de alterações teciduais, visto que seu aumento em determinado tecido pode contribuir no rastreamento de determinada modificação a nível plasmático (Santos, 2016).

A desregulação dos miRNAs na senescência celular está relacionada principalmente com a progressão tumoral, além de se associar a outras doenças, com a expectativa de serem utilizados como biomarcadores de prognóstico e diagnóstico para doenças. Dessa forma, é possível ver que os miRNAs possuem um papel importante no estudo da senescência e das perspectivas futuras da saúde humana (Santos, 2016); (Reddy *et al.*, 2017).

2 OBJETIVO

Realizar uma pesquisa bibliográfica em banco de dados e bibliotecas, a fim de discutir, analisar e relacionar a importância dos microRNAs para a regulação gênica no processo de senescência celular e como isso afeta as vias supressoras de tumor.

3 METODOLOGIA

Será realizada uma revisão bibliográfica narrativa a partir de artigos publicados nas línguas portuguesa e inglesa que serão encontrados nos bancos de dados PubMed, Scielo, Google Acadêmico e Biblioteca Virtual em Saúde, publicados entre o período de 2008 até 2023. As palavras-chaves utilizadas na pesquisa foram “Senescência celular”, “microRNA”, “SASP”, “Biogênese”, “p53”, “p16”. A fundação teórica também foi obtida por livros, teses e mais referências indicadas pelo orientador.

4 SENESCÊNCIA CELULAR

A senescência celular é determinada como um fenótipo complexo, multifatorial e que se inicia desde o nascimento de um ser humano, afetando assim a homeostase do organismo. No decorrer das últimas décadas foi constatado que a senescência celular não contribui apenas para o envelhecimento de órgãos e tecidos, mas que também é capaz de contribuir para muitos processos essenciais para a vida, como a supressão tumoral e reparação de tecidos. Contudo, foi visto que a senescência pode estar também associada à progressão tumoral, o que contraria a sua ação supressora (Esteireiro, 2013).

No decorrer da vida, isso leva a uma susceptibilidade a patologias crônicas, doenças características do envelhecimento de um organismo, pelo acúmulo de células senescentes. Essas células em níveis aumentados possuem erros na síntese das proteínas por uma alteração da expressão dos genes, que ocorreram devido a mutações causadas por danos moleculares ao DNA (Esteireiro, 2013); (Teixeira, 2010).

Assim, a senescência celular é caracterizada pela interrupção permanente da multiplicação da célula na mitose, reprogramação metabólica, secreção pró-inflamatória e fenótipo secretor associado a senescência (*SASP - Senescence-Associated Secretory Phenotype*) (Mijit *et al.*, 2020). Essas características levam a uma interrupção na replicação das células senescentes ou com danos no DNA (Esteireiro, 2013)

A origem da senescência é devido a estímulos que levam a um estresse celular, que acaba por induzir a esta parada. O estresse celular é descrito por alterações morfológicas, aumento de CDK inibidor de p16INK2a, expressão de beta-galactosidase associada à senescência (SA-beta-Gal), encurtamento dos telômeros, danos ao DNA e focos de heterocromatina associados à senescência (*SAHF- Senescence-Associated Heterochromatin Foci*). Outros fatores que induzem a senescência são a perda da supressão tumoral, citocinas, estresse oxidativo (Espécies Reativas de Oxigênio), danos irreversíveis ao DNA e ativação de oncogenes (Esteireiro, 2013); (Bu *et al.*, 2017).

A interrupção do ciclo faz com que a célula não seja capaz de continuá-lo e fique estacionada na fase G1 da intérfase, mas ainda apresentando atividade celular (Esteireiro, 2013). As células senescentes apresentam resistência à apoptose, que é uma morte celular programada para manutenção da homeostase. Há também uma alteração da regulação genética que apresenta alguns marcadores não específicos deste estado de senescência.

Está elucidado que as células senescentes em organismos jovens, atuam na supressão tumoral e na reparação dos tecidos, mas nos organismos senescentes há um acúmulo dessas células. Assim, a frequência delas levam ao fenótipo do envelhecimento, que é a inflamação crônica localizada e remodelação dos tecidos, o que é associado a tumores malignos (Esteireiro, 2013).

Há diversas teorias para explicar como a senescência celular está relacionada aos estímulos intrínsecos e extrínsecos que a induzem, com vias específicas que conduzem a esta consequência. Os indutores intrínsecos são dois a senescência replicativa e a induzida pelo estresse celular (Esteireiro, 2013).

Há também um fator extrínseco, que é o SASP, citado anteriormente, que é a secreção de proteases, citocinas, proteínas de matriz extracelular que não são solúveis e fatores de crescimento, além de aumentar os níveis de mRNA. Esses fatores levam a vias que vão ser discutidas mais adiante. O lado benéfico do SASP é o mecanismo de limpeza de células senescentes em tecidos, já o maléfico, é que foi associado a indução de sinais que levam a doenças do envelhecimento (Esteireiro, 2013).

4.1 SENESCÊNCIA REPLICATIVA

A senescência replicativa está relacionada com o encurtamento dos telômeros. Os telômeros são sequências de seis nucleotídeos, TTAGGG, que ficam localizadas nas extremidades dos cromossomos e permitem que no ciclo celular, não aconteça perdas ou fusão de outros cromossomos na replicação. Ele garante, então, o equilíbrio do genoma na divisão celular (Esteireiro, 2013).

Normalmente, entre quatro e oitenta anos, os telômeros são degradados cerca de 35 pares de bases (pb) ao ano. Isso faz com que o envelhecimento aconteça, porém com a enzima telomerase, este desgaste progressivo é menos agressivo pela recuperação de repetições (Esteireiro, 2013).

Assim, foi visto que a senescência replicativa é secundária à alteração telomérica citada, então quando os telômeros ficam em um nível crítico de encurtamento, eles acabam sendo identificados como um dano no DNA, sendo ativado então o seu reparo. Dessa forma, vias de senescência são ativadas à parada imediata e permanente do ciclo ou vias de apoptose são acionadas para levar a célula a morte não programada, dependendo do tipo celular (Esteireiro, 2013).

4.2 SENESCÊNCIA INDUZIDA POR ESTRESSE

Este tipo de senescência pode ser de duas causas diferentes: genética ou epigenética.

A alteração genética é quando o DNA sofre danos físicos ou químicos na estrutura, ou se ocorrem mutações na sequência de nucleotídeos, que levam a proteínas disfuncionais. Os danos podem ser extrínsecos: radiação ultravioleta ou ionizante, substâncias químicas e vírus; ou podem ser intrínsecos que são reações químicas espontâneas, como hidrólise, e o principal, que são radicais livres, como as Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) (Esteireiro, 2013).

Alguns exemplos de EROs são superóxido e peróxido de hidrogênio. Elas são altamente reativas e oxidantes, por isso podem causar danos ao DNA (Esteireiro, 2013). As EROs são produzidas na cadeia respiratória mitocondrial a partir de elétrons ineficientes junto de outros estímulos fisiopatológicos, como radiação ultravioleta, inflamação e o tabagismo. O aumento de EROs resulta em uma alteração no DNA principalmente mitocondrial, pois esse não é protegido com histonas, como o DNA nuclear. Isso leva a uma disfunção da fosforilação oxidativa e diminuição das defesas antioxidantes (Bu *et al.*, 2017); (Esteireiro, 2013).

Na senescência celular, as EROs estão associadas à parada do ciclo celular se o dano for irreparável. Dessa forma, ocorre a ativação da via p53, para que aconteça

a estabilização da proteína p53 e aumento da expressão do gene p21, levando à senescência ou a apoptose (Bu *et al.*, 2017); (Esteireiro, 2013).

O estresse oncogênico, caracterizado pelo aumento da expressão de oncogenes, também é um forte indutor de senescência celular, pois ele é capaz de ativar os sinalizadores de reparo e SAHF, os quais levam as vias de senescência (Esteireiro, 2013).

Em células jovens, EROs é essencial para a vitalidade, pois permite que vias sejam ativadas para o reparo. Já em células senescentes, o aumento de EROs faz com que aconteça um acúmulo de danos e mudanças químicas, levando ao estado de senescência (Bu *et al.*, 2017).

As alterações epigenéticas referem-se a variações da cromatina que são importantes para regulação da expressão genética por meio de mudanças no padrão heterocromatina e eucromatina de um segmento do DNA de uma célula, onde sua sequência primária não é modificada. Os mecanismos de regulação para a remodelação da cromatina são a metilação (não é o único radical de regulação) do DNA, ou alteração das proteínas histonas (desacetilação). Esse tipo de alteração epigenética pode ser relacionada na senescência replicativa ou na induzida por estresse, nesta última, alguns fármacos podem levar a uma senescência precoce por desordenar a organização da cromatina (Esteireiro, 2013).

Outro tipo de alteração epigenética são dos miRNAs, que são pequenas sequências não codificantes de RNA, eficientes na regulação da expressão de múltiplos genes. Isso possibilita mudanças celulares complexas que podem levar a senescência, pois eles conseguem induzir múltiplos processos, como proliferação, diferenciação e até apoptose. Dessa forma, foi relacionado que muitos miRNAs são associados a vias de senescência celular (Esteireiro, 2013).

Outros fatores de estresse levam a ativação do mecanismo de reparo, tanto dependente como independente, por meio da ativação de p19Arf, p16Ink4a e pRb. Por ser um processo multifatorial, a senescência tem uma evolução da senescência precoce para a completa. As sinalizações p53/p21 ou p16/pRb são um dos fatores essenciais para a fase inicial da senescência em que as células estão em trâmite do

ciclo regular para a sua parada definitiva. O outro fator seria a mudança na estrutura da cromatina e a organização cromossômica (Bu *et al.*, 2017).

4.3 VIAS DE SINALIZAÇÃO

As vias de sinalização celular e os mecanismos moleculares são fundamentais para a homeostase, este padrão vem sendo estudado para elucidar as vias da manutenção da senescência celular. Ao pensar na regulação da senescência há duas vias principais que vêm sendo destacadas, a p53/p21Cip1 e a p16INK4A/pRb. Essas são importantes vias para a supressão tumoral, mas que ao surgir danos no DNA podem se tornar vias de senescência ou apoptose. Dessa forma, a suspeita principal é que as vias, mais os estímulos, levam à senescência celular inicial (Mijit *et al.*, 2020).

4.3.1 Via da p53

A p53 é uma proteína codificada pelo gene p53, localizado no braço curto do cromossomo 17 (17p13.1). A proteína possui essa nomenclatura devido ao seu peso molecular ser 53 kiloDaltons (kDa). Ela é formada por 20 Kb e composta por 11 éxons, sendo o primeiro não-codificante; apresenta 393 aminoácidos e alguns domínios. O domínio denominado transativação, localizado na extremidade amino-terminal é responsável por regular a expressão dos genes que agem na interrupção do ciclo. Na região central, há os domínios encarregados de possibilitarem a ligação a sítios específicos do DNA. Já na extremidade carboxi-terminal há um domínio de formação de tetrâmeros (tetramerização) e um domínio regulatório, que impede que o domínio central interaja com regiões promotoras de genes supressores e de apoptose (Figura 1) (Neto, 2020).

Figura 1 - Domínios da p53 com os nucleotídeos



Fonte: Adaptado de RÍO, 2010.

Descrito isso, foi constatado que a p53 tem um papel extremamente relevante na supressão tumoral e na regulação da senescência, isso porque ela é responsável por estimular a expressão de genes-alvos envolvidos na interrupção do ciclo celular, que são capazes de fazer o reparo do DNA, apoptose e levar a senescência celular. Então, quando o dano ao DNA é reversível, acontece o reparo, mas quando é irreversível é induzido a apoptose ou a senescência (Figura 2). Dessa forma, pode-se entender que a proteína p53 é responsável por evitar o desenvolvimento da carcinogênese nas células jovens e saudáveis (Neto, 2020); (Bu *et al.*, 2017); (Mijit *et al.*, 2020).

Assim, os estímulos que levam ao estresse celular, já comentados, conseguem ativar a p53 e as cinases e acetiltransferases, que são capazes de fosforilar ou acetilar a proteína (Neto, 2020).

Portanto, em resposta aos danos do DNA (*DDR - DNA Damage Response*) e as EROs, o sistema de reparo do DNA é ativado. As proteínas cinases, que são sensores de estresse, ATR ou ATM, acabam por ativar o eixo p53/p21Cip1. Por consequência, acontecerá a acetilação, pós-traducional, da p53. Isso impossibilita a fosforilação de serinas na própria p53 na extremidade N-terminal, o que leva a ativação de genes-alvos, como CDKN1A, que codifica a proteína p21Cip1. Ela é essencial para a senescência, pois é uma proteína inibidora de CDK, ou seja, é capaz de parar a progressão do ciclo celular. A p21Cip1 modula a expressão dos genes-alvo da p53 e também é capaz de promover a senescência e evitar a apoptose. Isso porque a acetilação em certos sítios da p53 leva a hiper fosforilação, que está associada a baixa interação dos genes-alvo com a p53, que são genes pró apoptose (Mijit *et al.*, 2020). A manutenção do estado de senescência é feita pelo aumento dos níveis de p21, pois ela tem a capacidade de inibir a fosforilação da pRb, pelo complexo ciclina E/CDK2 (Ferreira, 2012).

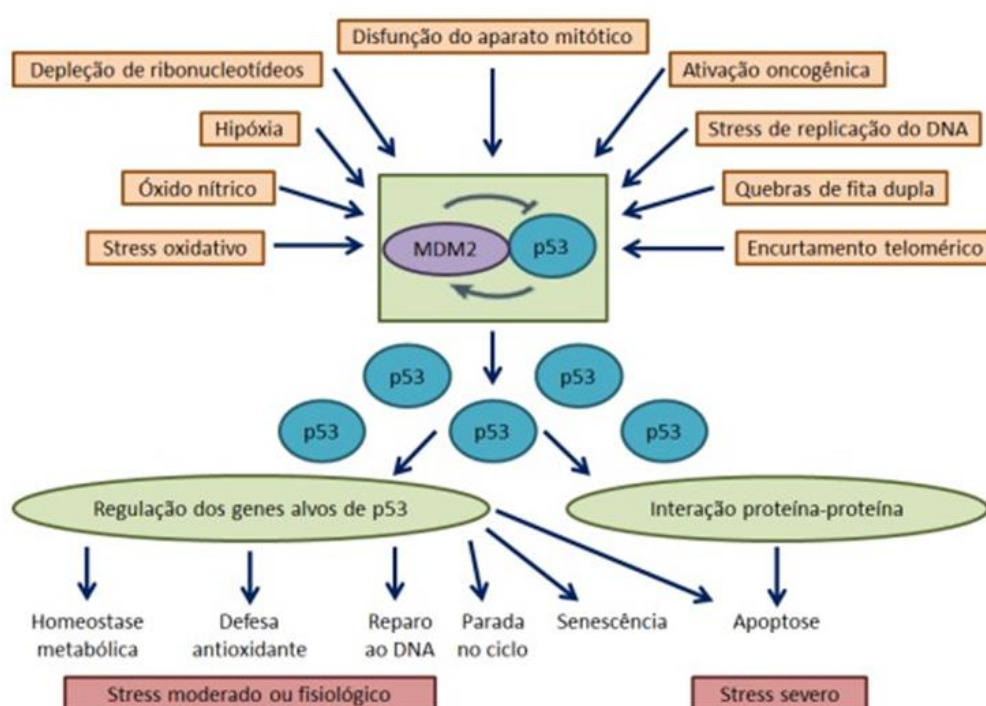
A regulação da p53, normalmente é realizada pela proteína MDM2, que faz uma retroalimentação negativa na p53, e assim, a p53 tem sua ação de supressão tumoral. A super expressão de MDM2 está associada a alteração genéticas de células cancerígenas, pois há uma disfunção da p53. Então o dano ao DNA ou alterações oncogênicas levam a ativação da p53, e quando acontece a sua fosforilação na

extremidade amino-terminal Ser-15 e indiretamente na Ser-20 pelas vias ChK1 e ChK2, ocorre a estabilização da p53. Dessa forma, há bloqueio da progressão do ciclo celular e a supressão tumoral (Bu *et al.*, 2017); (Mijit *et al.*, 2020); (Pimenta *et al.*, 2013).

Ou seja, a importância funcional da p53 é para a preservação do cromossomo e sua sinalização para interromper o ciclo celular por mutações ou devido ao estresse oxidativo, ocorre no checkpoint da fase G1/S (Gap-intervalo/Synthesis-síntese); a função dos checkpoints no ciclo é vital, pois eles impedem a formação de células irregulares, principalmente este da fase G1 para S, pois é o primeiro checkpoint do ciclo celular (Neto, 2020).

Então, a perda da função da proteína p53 traz uma deficiente resposta à supressão tumoral, pois afeta a possibilidade de apoptose e de senescência da célula anormal que passa pelo checkpoint G1/S, que são uma vantagem contra o câncer. Além de também haver uma disfunção nesse checkpoint de reparo do DNA (Neto, 2020).

Figura 2 - O desequilíbrio dos níveis da p53 e da sua ativação, que a deixa estabilizada, levam associação a genes alvos que induzem senescência, apoptose ou reparo, acontecendo a parada do ciclo.



4.3.2 Via da p16INK2a

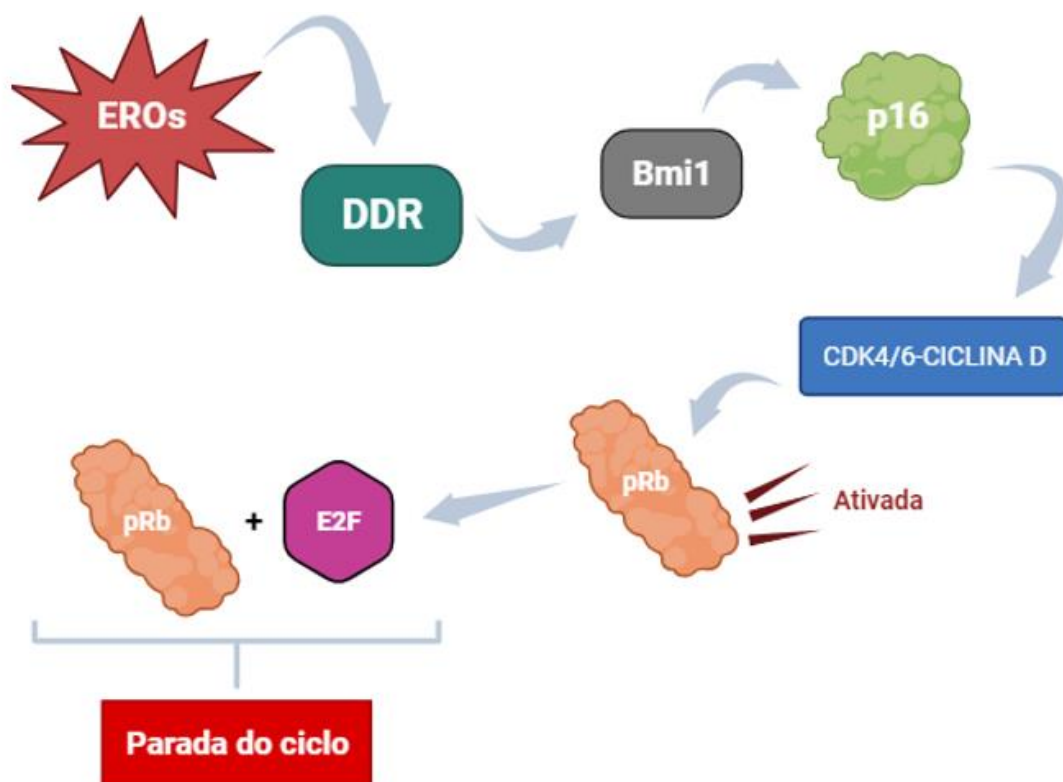
A p16 é uma proteína codificada pelo gene CDKN2, que também pode ser chamado de INK4A, que fica localizado no braço curto do cromossomo 9 (9p21). Ela é constituída por 156 aminoácidos, tem baixo peso molecular e apresenta uma função supressora de tumor. Ela age se ligando a CDKs, mais especificamente CDK4 e CDK6, que são cinases importantes para formação de complexos ativos de CDK-ciclina D. A proteína p16 é encontrada no checkpoint do ciclo celular, G1/S, assim como a p53 (Hsieh, 2011); (Fauri, 2008).

O aumento excessivo da expressão da p16 induz a parada do ciclo na fase G1, por meio de um complexo de ligação CDK4/ciclina D, o que inativa a atividade cinase da enzima, que é capaz de inibir o complexo (Figura 3) (Hsieh, 2011).

As principais proteínas pRb envolvidas no processo são a p130, p105 e p107, que parecem atuar na repressão da ciclina A. A ativação da p53 e da p16 parecem estar ligadas para o início da senescência celular com a parada do ciclo, então a ativação da p53 leva a uma diminuição dos níveis de p105 e p107, o que leva a um aumento de p130 na forma hiper fosforilada, tornando-se assim um marcador de senescência muito relevante (Mijit *et al.*, 2020).

Então, a p16 junto da ativação da pRb são importantes para a manutenção da senescência celular, assim como os níveis de p16 dizem sobre a possibilidade de haver uma reversão do quadro de senescência quando se está no início dela. Da mesma forma que, se a p16 está em altos níveis e a p53 não está sendo inativada, a parada do ciclo não pode ser evitada (Hsieh, 2011); (Ferreira, 2012); (Mijit *et al.*, 2020). Sendo assim, a disfunção da proteína p16 haverá uma proliferação anormal das células, pois elas passam da fase G1 a S sem a checagem carregando mutações que podem levar a tumores malignos, assim como disfunção da p53 (Hsieh, 2011).

Figura 3 - A proteína p16 é ativada após o estímulo de EROs, forma o complexo CDK4 ou CDK6 com a Ciclina D, levando a ativação da pRb, e assim, a parada do ciclo celular.



Fonte: Adaptado de Li, 2013.

5 RNAs NÃO CODIFICANTES (ncRNAs)

O processo central da célula é a utilização do DNA localizado no núcleo celular como molde para a transcrição de RNAs mensageiros, que são responsáveis pela síntese de proteínas (Hombach; Kretz, 2016). No entanto, uma grande porcentagem dos transcritos produzidos, são RNAs não codificantes (ncRNAs), correspondendo a 98% de todo o genoma.

Os ncRNAs foram descobertos no início da década de 1990, quando pesquisadores visavam encontrar novos genes codificantes de proteínas. São moléculas ausentes de ORFs (Open Reading Frames - Sequências de bases potencialmente codificadoras de proteínas), portanto, por muito tempo foram considerados “lixos transcricionais” por não apresentarem funcionalidade para a codificação de proteínas (Rossi; Gorospe, 2020). Porém, ao longo dos anos sua funcionalidade foi sendo descrita, demonstrando uma importância na manutenção e regulação gênica, bem como na sinalização e diferenciação celular.

Atualmente os ncRNAs estão relacionados com a senescência celular, visto que realizam a regulação do comprimento de telômeros por meio do controle de fatores celulares específicos (Rossi; Gorospe, 2020). Os RNAs não codificantes podem variar de acordo com suas funções e com o comprimento de sua sequência de nucleotídeos, com isso, possuem três diferentes classes, sendo a primeira classe dos RNAs de cadeia curta, como os miRNAs e RNAs de interferência, que contém de 18 a 25 nucleotídeos. A segunda classe é constituída por RNAs curtos responsáveis pela regulação transcricional e traducional, que possuem de 20 a 200 nucleotídeos de comprimento, como os piRNAs. (Hombach; Kretz, 2016). Por fim, a terceira classe é a dos RNAs longos que possuem mais de 200 nucleotídeos de comprimento, responsáveis pela modificação da cromatina e supressão da transcrição (Ponting; Oliver; Reik, 2009).

As diferentes classes contribuem para regulações celulares específicas, tanto traducionais como transcricionais. A partir disso, citaremos os principais ncRNAs descritos na literatura e sua importância.

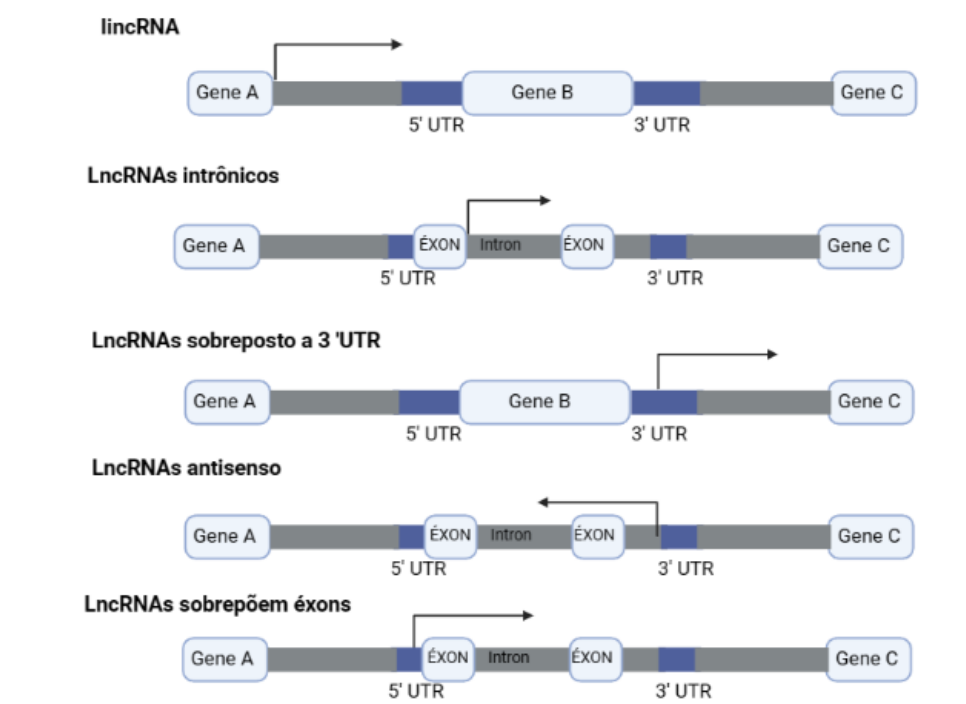
5.1 RNAs NÃO CODIFICANTES LONGOS (lncRNAs)

Os ncRNAs longos são caracterizados por apresentarem mais de 200 nucleotídeos de comprimento e por possuírem papéis importantes na dinâmica cromossômica, regulação na expressão de determinados genes, além de mediar mudanças epigenéticas por meio da modulação da cromatina (Schmitz; Grote; Herrmann, 2016).

Os lncRNAs são classificados pela sua localização genômica, localização subcelular e sua relação com genes codificadores de proteína. Portanto, podem apresentar diferentes localizações no genoma e originarem transcritos a partir disso: (1) lncRNAs intergênicos, que estão localizados em regiões intergênicas e possuem um comprimento maior que 200pb. (2) lncRNAs intrônicos que estão dentro de um íntron de um gene codificador de proteína, mas não interceptam nenhum éxon. (3) lncRNAs que se sobrepõe a região 3'-UTR. (4) lncRNAs anti-senso transcritos da

direção oposta dos genes que codificam proteínas. (5) LncRNAs senso que se sobrepõem aos éxons de genes que codificam proteínas (Figura 4) (Liang *et al.*, 2022).

Figura 4 - Localização dos LncRNAs em relação a genes codificadores de proteínas.



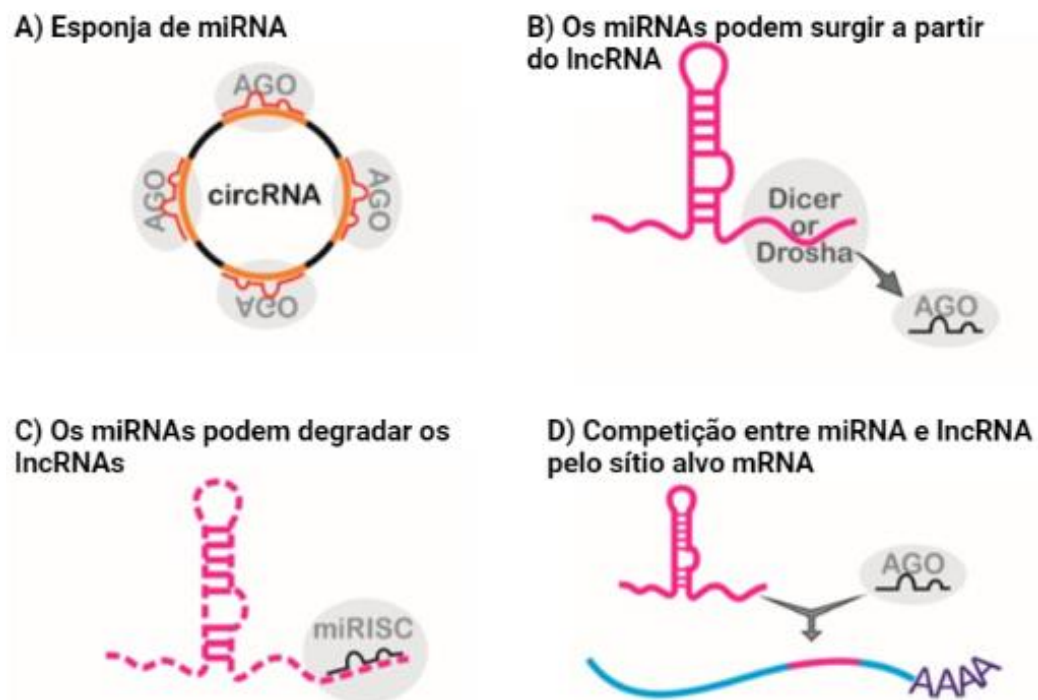
Fonte: Adaptado de Barros, 2016

Além da localização genômica, a localização subcelular é fundamental, pois determina as funções de cada lncRNA. Com isso, há classes diferentes para cada região celular em que podem ser encontrados. A primeira classe são dos lncRNAs no núcleo celular, normalmente responsáveis pela atividade moduladora na expressão gênica, a partir do recrutamento de fatores de transcrição e pela organização da cromatina por meio de modificadores de cromatina (AMCs).

Já a segunda classe, é caracterizada pelos lncRNAs também do núcleo, porém, responsáveis pela regulação gênica tanto de modo específico quanto geral. Um dos exemplos clássicos é o RNA não codificante, HOX antisense intergenic RNA (HOTAIR), que atualmente é amplamente estudado devido sua relação com a progressão do câncer e resistência medicamentosa, por meio de interações com vias responsáveis pelo desenvolvimento da doença, sendo, reprogramação epigenética, estabilidade proteica e transdução de sinais (Rajagopal *et al.*, 2020). Por fim, a

terceira classe é encontrada no citoplasma e podem atuar como competidores endógenos e serem “esponjas” de microRNAs, afetando sua expressão (Figura 5) (Liang *et al.*, 2022).

Figura 5 - Diferentes interações entre lncRNAs e microRNAs. (A) Os lncRNAs atuam como esponjas de microRNAs; (B) Os microRNAs podem surgir a partir do lncRNA; (C) Os microRNAs podem degradar o lncRNA; (D) Pode haver competição entre os microRNAs e lncRNAs pelo sítio alvo do mRNA



Fonte: Adaptado de Fernandes *et al.*, 2019

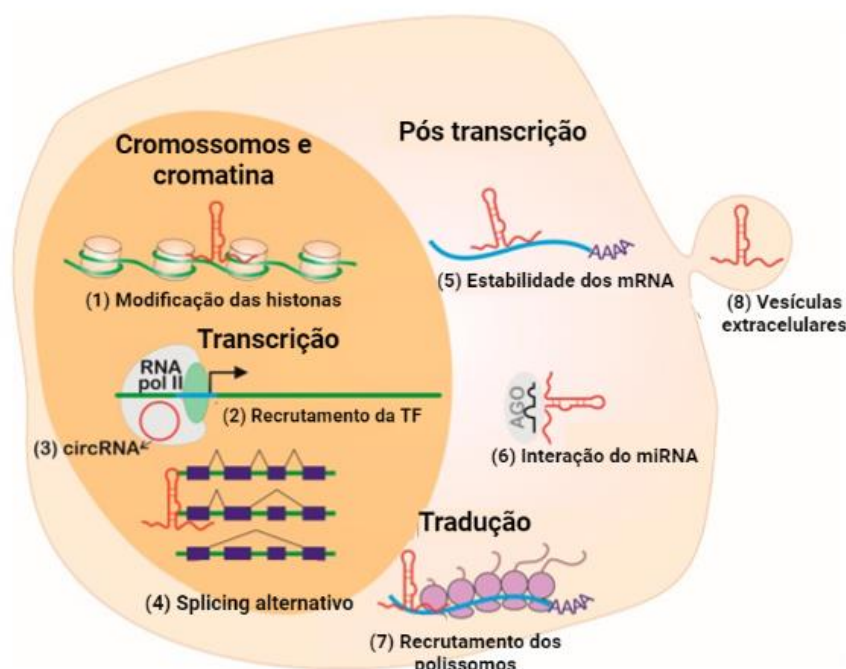
Os ncRNAs em geral possuem semelhanças na sua biogênese com a do RNA mensageiro, sendo transcritos pela RNA polimerase II. Porém, como não possuem ORF, acabam apresentando uma expressão mais baixa do que de genes codificantes de proteínas (Fernandes *et al.*, 2019).

Os lncRNAs após serem transcritos pela RNA polimerase II, podem sofrer a poliadenilação da região 3' e o “capping” na região 5', a fim de conferir a estabilidade da molécula. Posteriormente, os transcritos sofrem splicing e se tornam lncRNAs maduros (Formichi *et al.*, 2021). Após este processamento, os RNAs não codificantes longos podem realizar funções celulares, sendo uma das principais, a regulação do

splicing alternativo. Além disso, podem influenciar a remodelação da cromatina, formar duplex RNA-RNA com moléculas de pré-mRNA ou o duplex RNA-DNA e podem interagir com fatores de splicing específicos (Pisignano; Lodomery, 2021).

Além dessa função realizada pelos RNAs longos não codificantes, é possível observar outras regulações celulares após sua biogênese, como as detalhadas pela figura a seguir:

Figura 6 - Participação do lncRNA na regulação da expressão gênica. Muitos tipos de controles de lncRNA podem ocorrer para regular a expressão gênica.



Fonte: Fernandes *et al.*, 2019

Legenda: (1) cromatina e condensação cromossômica através de modificações de histonas, (2) fatores de transcrição (TF) recrutamento direto, (3) ligação à RNA polimerase (pol) II, (4) splicing alternativo, (5) estabilidade do mRNA, (6) disponibilidade do miRNA, (7) Recrutamento de polissomos e (8) modulação da expressão gênica em células vizinhas através do empacotamento em vesículas extracelulares (Fernandes *et al.*, 2019).

5.2 RNAs curtos de interferência (siRNAs)

Além da classe de ncRNAs citadas anteriormente, também há a dos RNAs curtos de interferência (siRNAs). Os siRNAs foram descritos pela primeira vez em plantas (Petúnias), durante o início da década de 1990 (França *et al.*, 2011). Após isso,

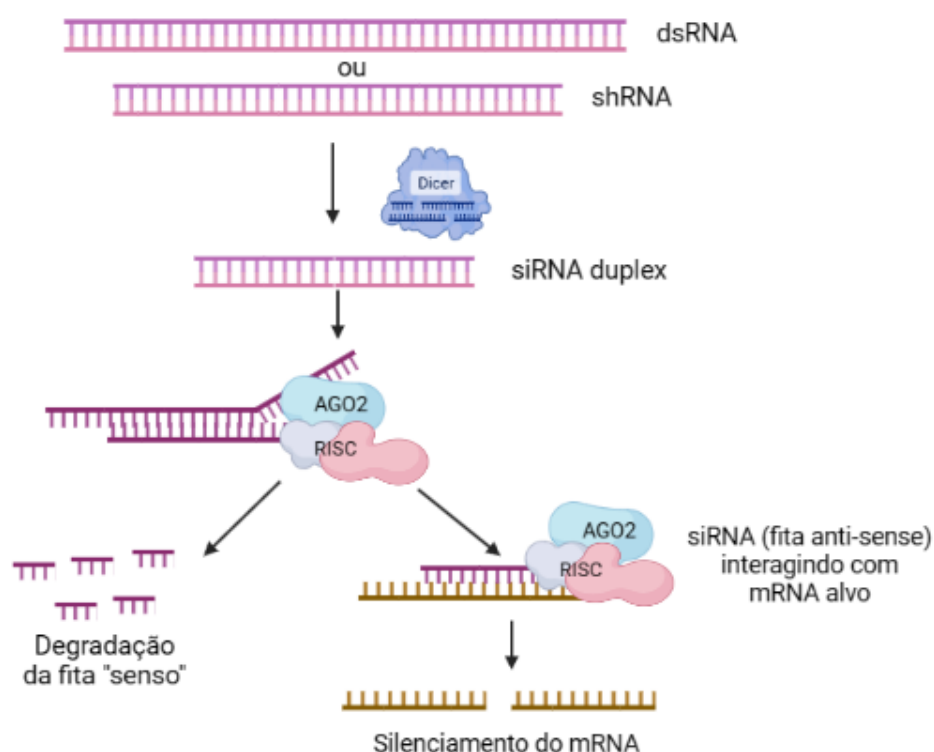
em 2006, os pesquisadores norte-americanos, Andrew Z Fira e Craig C. Mello, elucidaram o mecanismo de ação do RNAi.

Os RNAs curtos de interferência são caracterizados por apresentarem de 20 a 30 nucleotídeos de comprimento e serem responsáveis por mecanismos de silenciamento pós transcricional e regulação gênica. Os siRNAs são produzidos a partir da clivagem de precursores de dsRNA mais longos por meio de uma RNase, a endonuclease DICER. Além de poderem ser sintetizados por métodos químicos e bioquímicos (Kim; Rossi, 2008). Além disso, diferentes tipos de RNA de cadeia dupla podem ser utilizados, como os shRNAs que possuem uma cadeia de RNA com a presença de um hairpin loop de um lado da estrutura (França *et al.*, 2011).

Atualmente, os siRNAs são utilizados para estudos em que é necessário o knockout de determinado gene, a fim de analisar a importância daquele gene para a célula como uma possível alternativa terapêutica (França *et al.*, 2011).

O mecanismo de regulação do siRNA é mediado por pequenos RNAs de fita dupla (dsRNAs), que é capaz de reconhecer uma sequência de mRNA-alvo a partir de um complexo intracitoplasmático, chamado RISC (RNA - *Induced Silencing Complex*). Esse complexo permite o pareamento entre as fitas por meio da complementariedade de bases, ocasionando o silenciamento por inibição da tradução e/ou degradação do mRNA (Figura 7) (França *et al.*, 2010).

Figura 7 - Demonstração da origem do siRNA e de como atua silenciando/inibindo o mRNA específico.



Fonte: Adaptado de García-Sánchez; García, 2016.

5.3 RNAs circulares exônicos (circRNA)

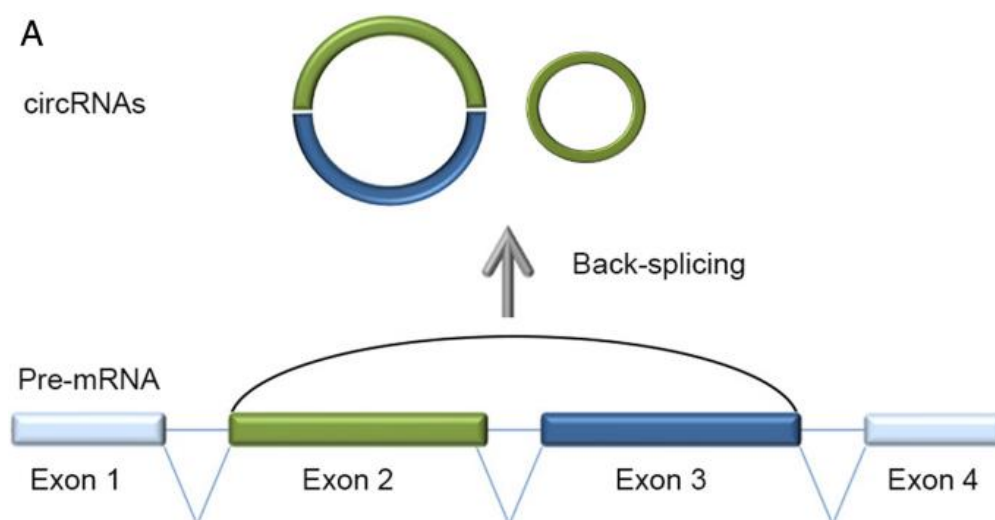
Os RNAs circulares exônicos (circRNA), são moléculas covalentemente fechadas sem poliadenilação na região 3'UTR. São altamente conservados entre espécies, e foram descobertos primeiramente em leveduras e vírus, em 1976 (Formichi *et al.*, 2021). Posteriormente, foram detectados em células HeLa humanas (Zhou *et al.*, 2020).

Atualmente, algumas funções dos circRNA foram reveladas, sendo capazes de realizar a regulação transcricional, atuar como “esponja de miRNA”, regular respostas imunes e interagir com proteínas (Zhou *et al.*, 2020).

Os RNAs circulares exônicos são formados a partir do “back splicing”, sendo um tipo de splicing alternativo no qual a extremidade 3' UTR de um éxon do pré-mRNA

se liga à extremidade 5' UTR de si próprio ou a um éxon próximo, através de uma ligação 3', 5' fosfodiéster, formando uma estrutura fechada com um local de junção “back-splicing” (Figura 8) (Yu; Kuo, 2019).

Figura 8 - Demonstração da biogênese dos circRNAs a partir de um pré-mRNA.



Fonte: Adaptado de Yu; Kuo, 2019

Os circRNAs normalmente são encontrados no citoplasma, e por não apresentarem o cap 5' e a cauda 3', acabam se tornando moléculas resistentes devido seu formato circular, não sofrendo degradação de RNases (Yu; Kuo, 2019).

6 O QUE SÃO OS microRNAs

Os microRNAs são moléculas de RNA, que se apresentam em pequenas sequências, de 19 a 24 nucleotídeos (Bhaskaran; Mohan, 2014). Os miRNAs não são capazes de codificar uma proteína, mas foi relacionado que são essenciais para regulação pós-transcricional da expressão gênica e a patologias não-neoplásicas e tumores (Jorge *et al.*, 2021). Os miRNAs funcionam se ligando a sequências-alvos, complementares, em mRNA. Dessa forma, a maquinaria de tradução sofre uma intervenção, e assim, a tradução é parada ou altera o produto proteico final (Bhaskaran; Mohan, 2014).

Existem mais de 2.500 miRNAs identificados da espécie humana, porém há muitos que não se compreende a função ainda. Eles são organizados por nomenclaturas específicas, para serem identificados, e relatado no miRBase, onde os miRNA descritos são organizados em seções com descrições. Esta base de dados é organizada pela Universidade de Manchester (<https://www.mirbase.org>) (Jorge *et al.*, 2021).

6.1 NOMENCLATURA DOS microRNAs

O sistema de nomenclatura para os miRNAs é para garantir uma uniformidade e praticidade na catalogação. Eles são numerados de forma sequencial conforme são desvendados e publicados. Os miRNAs que foram estudados experimentalmente, recebem a numeração e o prefixo “miR-”. Para determinar a espécie *Homo sapiens* do miRNA há também o prefixo “hsam” antes do “miR”. Outra terminologia é que quando a letra “R” está em maiúsculo, diz sobre o miRNA maduro e quando está em minúsculo, aborda o gene que codifica o miRNA, ou seja, o miRNA primário (Bhaskaran; Mohan, 2014).

Há genes de miRNAs que possuem cópias parálogas no genoma. Quando essas cópias originam sequências maduras idênticas, após o número de identificação, há um sufixo numérico para diferenciar as sequências de miRNA, que podem estar em localizadas em diferentes cromossomos, como por exemplo, os genes hsa-mir-7-1, hsa-mir-7-2 e hsa-mir-7-3, situadas nos cromossomos 9 (9q21.32), 15 (15q26.1) e 19 (19p13.3), respectivamente (Nunes, 2015).

Outros genes de miRNAs são capazes de expressar sequências maduras similares, que diferem apenas 1 ou 2 nucleotídeos, para esses, além do sufixo numérico há uma letra minúscula. Já para os miRNAs maduros, há também a letra minúscula. Os miRNAs podem também ser classificados de acordo com a extremidade do pré-microRNA que os miRNAs maduro originam-se. Nesse caso, há os sufixos “-5p” e “-3p”, para indicar a extremidade 5’ ou a 3’, respectivamente (Nunes, 2015).

Os miRNAs podem também ser encontrados em forma de agregados, assim são chamados de “clusters”, que pode ser chamado de “cluster” mais o nome do miRNA na ordem crescente, sentido 5’ para 3’. Os exemplos de miRNAs e sua nomenclatura descrita neste texto estão no “Quadro 1” (Nunes, 2015).

Quadro 1: Exemplos de miRNAs e sua nomenclatura

Nome do microRNA	Explicação da nomenclatura
mir-21	Um loci genômico que codifica o miRNA precursor
miR-21	É microRNA maduro
hsa-mir-219-1	Um miRNA do organismo Homo sapiens (hsa); um loci genômico (mir); número de identificação 219; apresenta uma sequência precursora idêntica sendo ela número 1
hsa-miR-130b	Um miRNA maduro do organismo Homo sapiens, que derivam do precursor hsa mir-130b
hsa-miR-133a-5p	Um miRNA maduro que provém da extremidade 5’ do precursor
cluster miR-17-mir-92	É um cluster de sete miRNAs (miR-17-5p, miR-17-3p, miR-18, miR-19a, miR-20a, miR-19b-1 e miR-92-1)

Fonte: As autoras, 2023.

6.2 BIOGÊNESE DOS miRNAs

O processo de biogênese pode ser dividido em 2 vias: Via canônica e não canônica. A primeira via é caracterizada pela presença das enzimas, DROSHA e DICER, sendo a primeira enzima responsável por clivar os precursores do miRNA no núcleo, enquanto a segunda realiza esse processo no citoplasma (Jorge *et al.*, 2021). Além disso, há a participação das enzimas da família Argonauta e proteínas responsáveis pelo efeito regulador pós-transcricional, o complexo RISC (Costa; Leitão; Enguita, 2012).

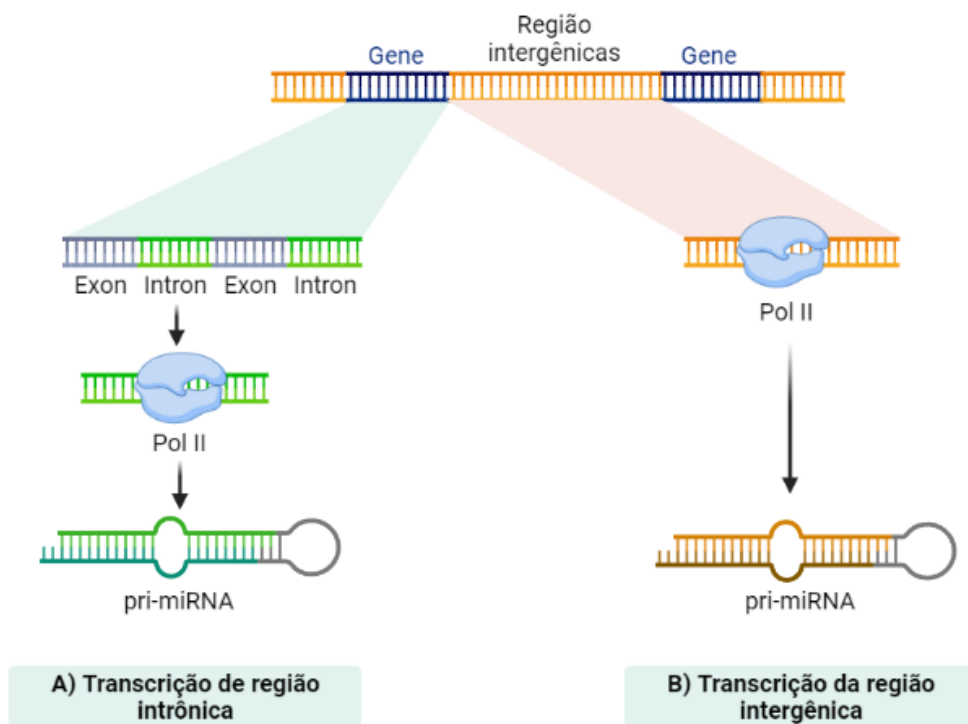
6.2.1 Transcrição e processamento celular da biogênese canônica

A biogênese da via canônica começa no núcleo celular a partir da transcrição de regiões intragênicas (regiões intrônicas) e intergênicas, ocorrendo tanto da fita antisense quanto da fita sense do DNA, pela RNA polimerase II ou RNA polimerase III (Jorge *et al.*, 2021).

A partir da transcrição, há o surgimento do miRNA primário (pri-miRNA) que possui estrutura de hairpin, com regiões “stem”, em que dois segmentos de RNA com bases complementares são pareados, formando uma região de dsRNA (RNA de cadeia dupla), com seus extremos protegidos por encapsamento (CAP) e cauda poli-A (Figura 9) (Kim; Han; Siomi, 2009).

Além disso, há as regiões “loop”, nas quais os pares de bases não são complementares, constituindo, assim, alças circulares (Sun; Tsao, 2008); (Amaral *et al.*, 2010).

Figura 9 - Transcrição das regiões intrônicas e intergênicas.

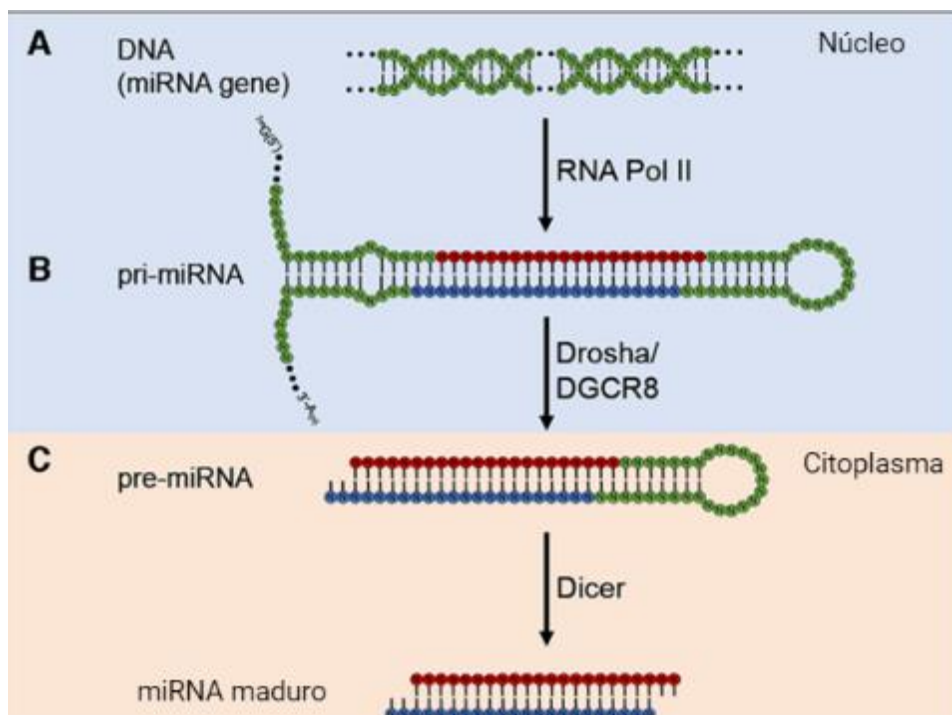


Fonte: Adaptado de Finkbeiner, 2023.

Após a criação do pri-miRNA no núcleo, há o processamento pela enzima DROSHA e a proteína DGCR8, que irá reconhecer a estrutura “stem e loop” e irá remover a cauda poli A e o encapamento das extremidades (Vishnoi; Rani, 2016); (Otaguiri, 2013).

A estrutura que é liberada não possui 2 nucleotídeos na extremidade 3', devido a ação da enzima DROSHA e possui aproximadamente 70 nucleotídeos de comprimento, sendo denominada pré-miRNA (Figura 10) (Formichi et al., 2021).

Figura 10 - Via Canônica



Fonte: Adaptado de Kilikevicius; Meister; Corey, 2021

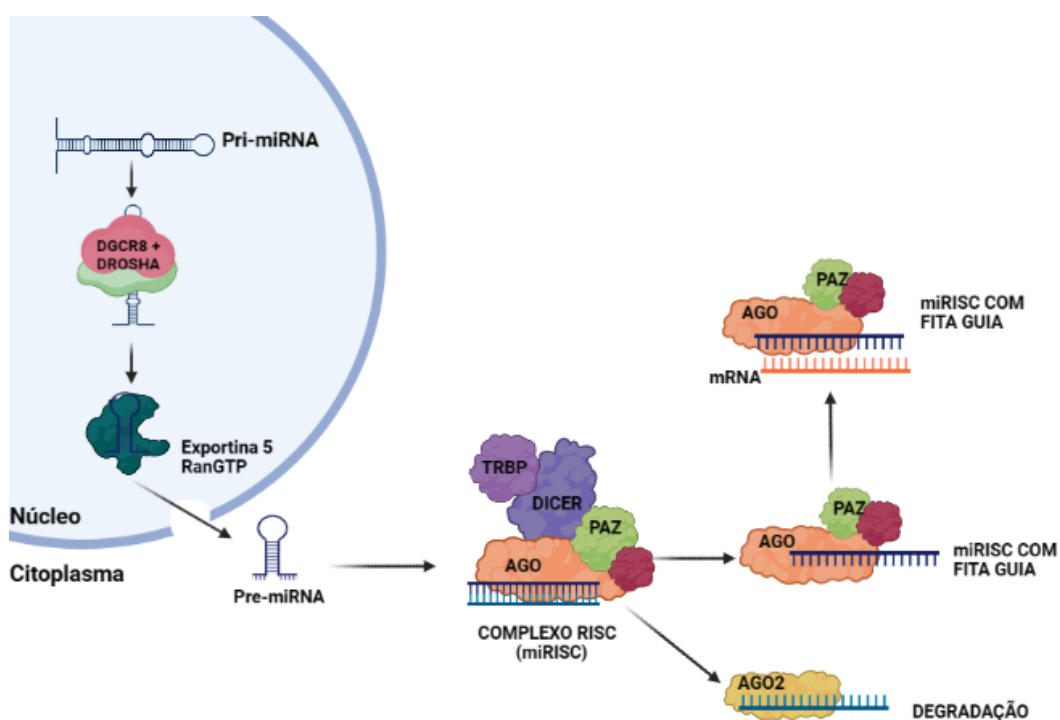
6.2.2 Processamento citoplasmático

Após a geração, o complexo exportina-5 (XPO5)/RanGTP reconhece os pré-miRNAs e os exporta para o citoplasma, onde são processados pelo Complexo de Silenciamento Induzido por RNA (*RISC – RNA-induced silencing complex*). Este complexo apresenta a ribonuclease tipo III (*DICER*), proteínas argonautas de ligação de RNA e a proteína TRBP, que tem como função se ligar na fita dupla de RNA, conectar a DICER e as proteínas argonautas (*AGO*), transferindo o pré-miRNA para

dentro do complexo (Otaguiri, 2013). Já dentro do RISC, a DICER irá reconhecer o 5' fosfato e a saliência na região 3', e por meio da helicase PAZ, estrutura encontrada junto a DICER, irá retirar o loop terminal do pré-miRNA, que resultará em um duplex miRNA maduro, contendo 22 nucleotídeos de comprimento (Vishnoi; Rani, 2016); (Otaguiri, 2013).

Em seguida, a fita guia é carregada pelas proteínas argonautas de maneira dependente de ATP, enquanto a outra fita é retirada do complexo e degradada pela Argonata 2 (AGO2) (Figura 11) (Formichi et al., 2021).

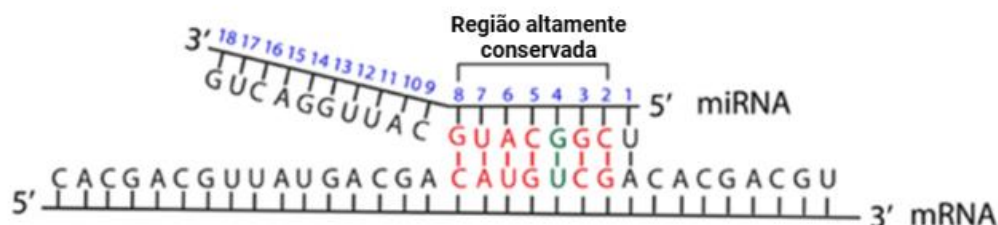
Figura 11 - Processamento do pre-miRNA no complexo RISC



Fonte: As autoras, 2023.

Após a seleção da fita guia, o complexo miRISC será guiado até o mRNA alvo, para ocorrer a regulação de sua expressão. A partir disso, o complexo RISC identifica as sequências complementares dentro da região 3' UTR do mRNA alvo, levando à instabilidade do mRNA ou reprimindo sua tradução (O'brien *et al.*, 2018). A regulação da expressão ocorre devido a complementaridade da região 5' do miRNA, sendo uma região hepta métrica altamente conservada (seed region), com a região alvo do mRNA (Figura 12) (Formichi *et al.*, 2021).

Figura 12 - A sequência altamente conservada do miRNA está localizada do nucleotídeo 2-8 na região 5' e há a complementaridade da região com o mRNA alvo.



Fonte: Peterson *et al.*, 2014

Após o reconhecimento, diferentes mecanismos regulatórios podem ocorrer, como: deadenilação do mRNA, clivagem do alvo do mRNA ou repressão translacional (Formichi *et al.*, 2021).

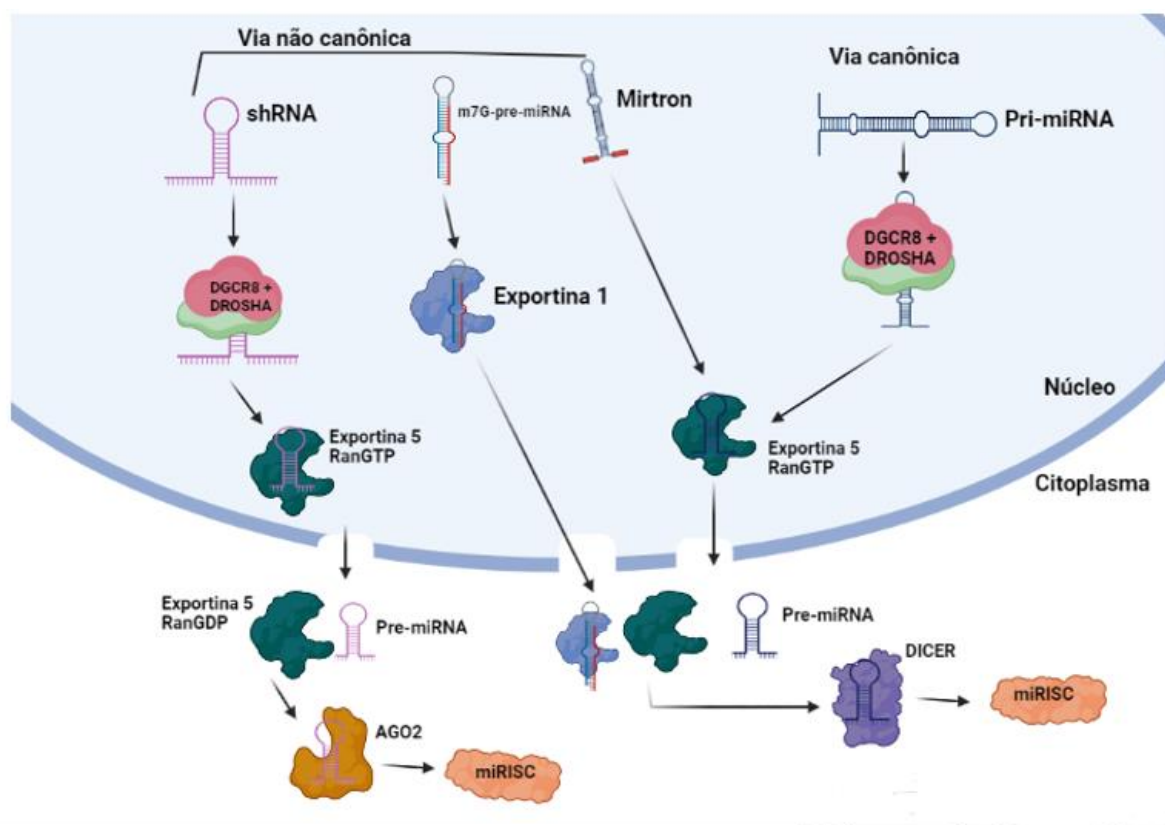
6.2.3 Via não canônica Transcrição e processamento celular da biogênese não canônica

No processo de biogênese de miRNAs por vias não canônicas, a produção de pré-miRNAs ocorre no núcleo, a partir de outras moléculas, como o *short hairpin RNA* (shRNAs), miRtron ou m7G-pre-miRN (Jorge *et al.*, 2021). Os shRNAs, são clivados pelo complexo DGCR8/DROSHA e exportados para o citoplasma por meio da Exportin-5/RanGTP. No citoplasma ocorre o processamento dos pré-miRNAs pela AGO2, independente da DICER, pois não possuem comprimento suficiente para serem substratos da DICER (O'brien *et al.*, 2018).

Por outro lado, os miRtrons e m7g-pre-miRN são exportados diretamente para o citoplasma por meio da exportina-1 e exportina-5, respectivamente. Enquanto estão no núcleo, não são clivados pelo complexo DROSHA/DGCR8. Diferentemente dos shRNAs, esses pré-miRNAs requerem ser processados pela DICER (O'brien *et al.*, 2018).

Os caminhos citados anteriormente irão resultar em um complexo miRISC funcional, que irá reconhecer o mRNA alvo e realizar a regulação, como na via canônica (Figura 13).

Figura 13 - Nas vias não canônicas, pequenos hairpin RNA (shRNA) são inicialmente clivados pelo complexo DROSHA/DGCR8. A biogênese não canônica pode ser dividida em vias independentes de DROSHA/DGCR8 e independentes de DICER.



Fonte: Adaptado de O'brien *et al.*, 2018

6.3. MECANISMOS DE AÇÃO

A complementaridade da região do miRNA com o mRNA contribui para a regulação gênica e o complexo miRISC é fundamental para esse reconhecimento, tanto nas vias canônicas como nas não canônicas. Porém, dependendo do grau de complementaridade entre as bases, uma das vias pode ser utilizada: a via do RNA de interferência (siRNA) ou a via do miRNA (Amaral *et al.*, 2010).

Caso a complementaridade mRNA e miRNA seja quase perfeita, a via do siRNA será utilizada, e haverá a clivagem pela RISC, especialmente a enzima AGO2, levando à degradação do mRNA. Este modo de silenciamento é mais encontrado em plantas (Cowland; Hother; Gronbaek, 2007).

Por outro lado, as células humanas seguem outro tipo de silenciamento, sendo a via do miRNA. Portanto, caso a compatibilidade entre o miRNA e o mRNA seja parcial, poderá haver a repressão da tradução, repressão da fase de alongamento da tradução e desestabilização do transcrito a partir da retirada da cauda poli A (Cowland; Hother; Gronbaek, 2007).

A maioria das vezes os miRNAs se ligam principalmente na região 3' UTR do RNAm, como também na região 5' UTR, e até mesmo na região promotora. Essa interação pode fazer com que haja a repressão da tradução, porém, quando ligados na região promotora, podem ativar a expressão (Jorge *et al.*, 2021).

Contudo, a capacidade dos miRNAs de interagirem com diversos mRNA nos possibilita compreender que um determinado miRNA pode regular processos opostos em distintos tipos celulares, como, aumentar a proliferação celular e a taxa de apoptose (Jorge *et al.*, 2021).

Além disso, em estudos anteriores foi demonstrado que os RNAm quando silenciados pelos miRNAs, podem ficar acumulados em compartimentos no citoplasma, denominados corpos de processamento (P-bodies). Nesses compartimentos, há diversas enzimas que promovem a deadenilação, decapamento ou degradação dos RNAs mensageiros. Esse mecanismo contribui para o controle dos mRNAs (Amaral *et al.*, 2010).

6.4. MECANISMO DE TRANSPORTE DE miRNAs

Após o processo de biogênese dos miRNAs, poderão ser exportados por meio de tráfego de vesículas e transportadores de proteína. A descoberta desse mecanismo foi realizada por Valadi *et al.*, após observarem miRNAs e mRNAs sendo

transportados por exossomos e sendo captados por outras células (Valadi *et al.*, 2007); (Mori *et al.*, 2019).

O transporte de miRNAs por meio de exossomos contribui para a modulação da expressão gênica e a função de células distais. Porém, esse mecanismo ainda não é completamente entendido, sendo um tema a ser amplamente estudado, visto que pode estar associado à progressão de doenças. (Mori *et al.*, 2019).

Por outro lado, os miRNAs podem ser transportados associados a proteínas com o objetivo de levar até determinada célula e realizar a inibição do RNA mensageiro alvo. Esse mecanismo de transporte pode ser realizado por lipoproteínas, como LDL (Lipoproteína de baixa densidade) e HDL (Lipoproteína de alta densidade). Os miRNAs podem se associar a HDL por meio do receptor scavenger classe B tipo I (SR-BI), adentrando assim em células (Mori *et al.*, 2019).

Os miRNAs não estão restritos a apenas os transportes citados anteriormente, há também o transporte por meio de ribonucleoproteínas como a AGO2 e NPM1 (Proteína localizada no nucléolo), esse mecanismo corresponde a 90%, enquanto 10% estão relacionados ao transporte por exossomos (Ho *et al.*, 2022). Entretanto, há outras proteínas que ainda não foram determinadas como participantes no transporte de miRNAs (Arroyo *et al.*, 2011); (Mori *et al.*, 2019).

Contudo, os miRNAs extracelulares podem atuar como importantes biomarcadores em diversas doenças, visto que podem se apresentar em grandes ou pequenas quantidades em certos tecidos, demonstrando algum tipo de alteração celular e contribuindo para o diagnóstico precoce de doenças

7 RELAÇÃO DOS microRNAs E SENESCÊNCIA CELULAR

A relação dos miRNAs com a senescência celular é complexa, mas se sabe que existe um padrão de expressão dos miRNAs, ainda em estudo, que varia de acordo com a idade do organismo, tipo celular e tecidual. A ação dos miRNAs sobre os mRNAs é que resultam no produto, assim, foi associado que diferentes grupos de miRNAs levam a distintas ações, como por exemplo, aumento ou diminuição da

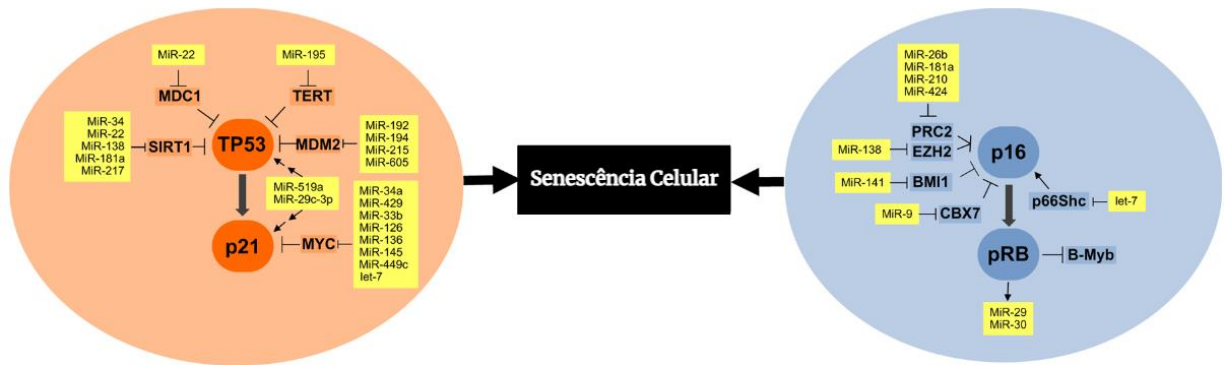
progressão do envelhecimento e ação de supressão tumoral. Assim, os miRNAs possuem ação antagônicas no caso da senescência e supressão tumoral, fazendo com que descobrir o padrão exato seja complexo, mas que foi possível entender que as alterações dependem do contexto em que os miRNAs estão inseridos (Santos, 2016).

7.1 miRNAs ENVOLVIDOS NA VIA p53

Assim, alguns miRNAs associados a esta via de sinalização, sendo superexpresso ou até sub-expresso na senescência celular. Há miRNAs que quando estão sub-expressão acabam por induzir a senescência, porque aumenta-se os níveis de p53. Isso ocorre com o miR-125b, que se liga diretamente ao mRNA p53, que acaba por suprimir a p53 e inibir a senescência quando está superexpresso. O mesmo ocorre para miR-504, MiR-25 e miR-30d, que possuem como alvo a p53 e evitar a senescência, mas que se tiverem níveis baixos induzem-na (Munk *et al.*, 2017).

Outro alvo dos miRNAs na via p53 são proteínas que agem sobre a p53 ou sobre a p21, deixando a ativada de forma direta, ou indireta (o mecanismo de desativação da proteína p53 ou p21 não funciona). Um exemplo disso é a MDM2, que é uma proteína capaz de desacetilar a p53, impedindo a senescência e apoptose. Dessa forma, miRNAs como miR-192, miR-194, miR-215 e miR-605 agem sobre o gene, impedindo a expressão da proteína MDM2. A consequência são níveis de p53 ativada aumentados o que desencadeia a senescência. A SIRT1 é uma proteína que também consegue atuar sobre a p53 ativada, sendo um possível alvo de miRNAs que impedem a expressão da proteína, são eles: miR-34, miR-22, miR-138, miR-181a e miR-217 para inibir a supressão (Figura 14) (Munk *et al.*, 2017).

Figura 14 - miRNAs que agem na p53 e p21

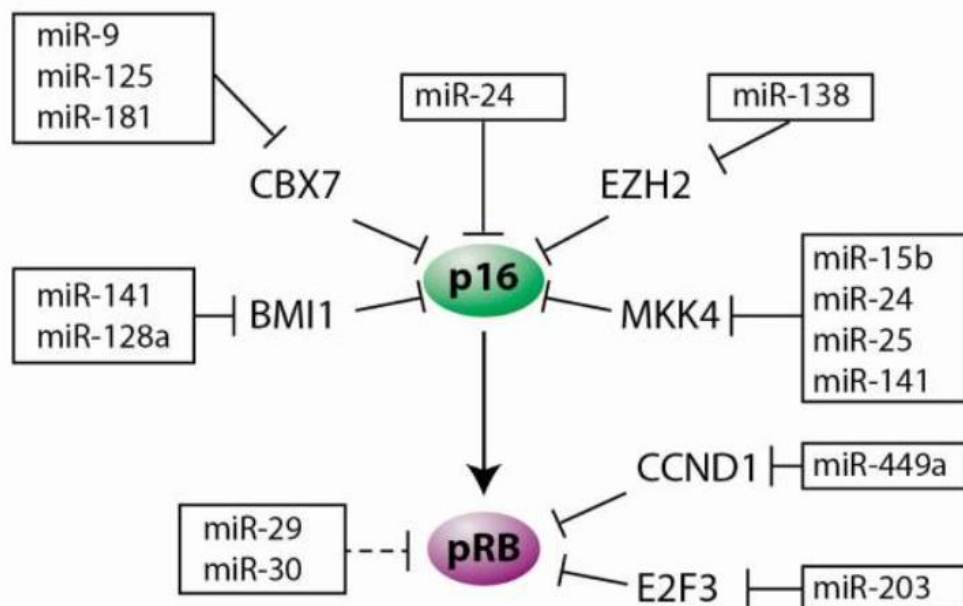


Fonte: Adaptado de Munk *et al.*, 2017

7.2 miRNAs ENVOLVIDOS NA VIA p16

Na via p16 foram demonstrados miRNAs que estão envolvidos no processo de senescência celular, principalmente suprimindo a expressão da p16 (Figura 15).

Figura 15 - Principais miRNAs estudados que interferem na via p16



Fonte: Adaptado de Suh, 2018

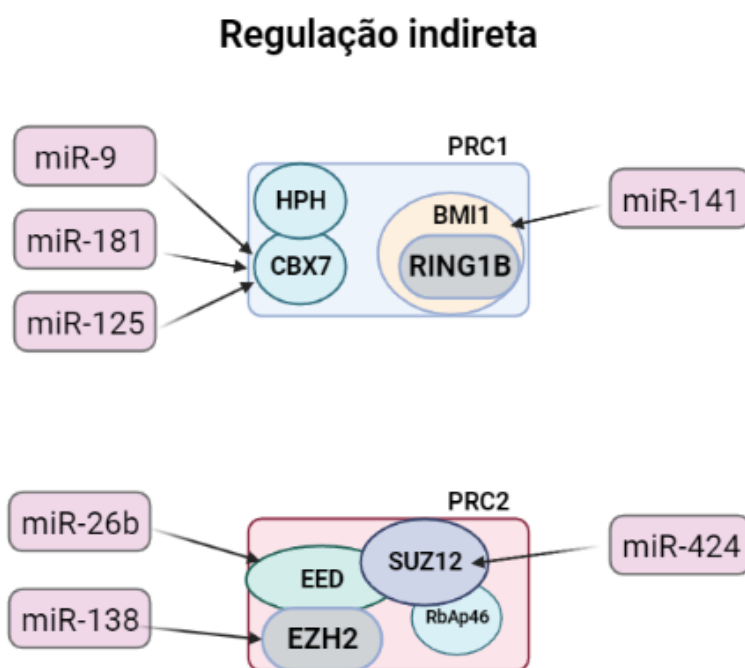
A partir de estudos recentes, foi demonstrado que a via p16 pode ser regulada pelos miRNAs, de forma direta ou indireta (Suh, 2018)

A regulação direta está associada ao miR-24, responsável por se ligar diretamente a p16 e suprimir a tradução tanto em células humanas como em linhagens tumorais e em modelos de doenças, como a osteoartrite. A via p16 possui muitas interações, portanto sua regulação é complexa e o miR-24 é considerado o principal miRNA por regular a via, porque se liga exclusivamente a essa proteína (Suh, 2018).

A regulação indireta por sua vez está relacionada com miRNAs que atuam se ligando a reguladores epigenéticos, como o complexo Polycomb repressivo PRC1 e PRC2, que são capazes de modificar histonas e muitas vezes reprimir a expressão gênica. Os principais miRNAs, associados a essas modificações epigenéticas são miR-9, miR-125 e miR-181, sendo capazes de modular o CBX7, proteína associada ao complexo PRC1, que é capaz de reprimir o locus INK4/ARF, local em que se encontra a p16 (O'loghlen *et al.*, 2015).

Além disso, outros miRNAs como o miR-141, miR-138, miR-424, miR-26b, podem atuar reprimindo outras regiões como o BMI1 (oncogene capaz de regular a p16), EZH2 (enzima que participa do complexo PRC2), proteínas PcG (polycomb) como a SUZ12 (Figura 16) (Suh, 2018).

Figura 16 - Demonstração dos miRNAs que realizam a regulação indireta



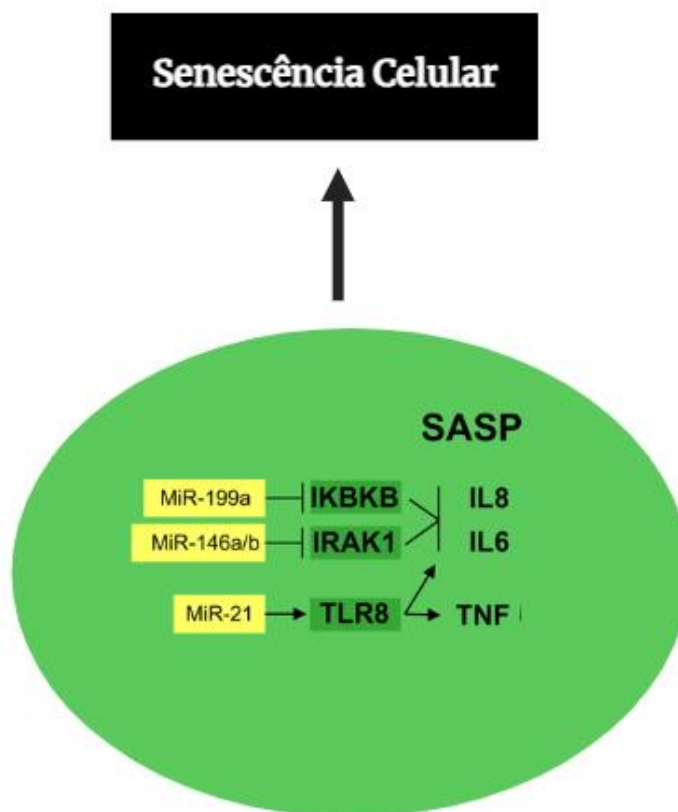
Fonte: As autoras, 2023.

Além da regulação direta e indireta, há miRNAs que podem regular a pRB, proteína associada ao crescimento celular e a via p16, sendo os miR-29 e miR-30. Os miRNAs citados também são capazes de reprimir a B-Myb (MYBL2), um fator de transcrição capaz de regular positivamente a expressão de diversos genes associados à proliferação celular. Essa repressão ocorre em células em senescência. (Martinez *et al.*, 2011).

7.3. miRNAs FORA DAS VIAS PRINCIPAIS DA SENESCÊNCIA CELULAR

Além dos miRNAs que atuam diretamente nas vias de sinalização há os que agem na rede que regula o fenótipo relacionado a senescência, o SASP. Isso se concentra no espaço intracelular e influencia as vias de sinalização à parada. Os miR-146a e miR-146b aumentam a expressão de IRAK1 (Cinase Associada ao Receptor de Interleucina-1), o que induz secreção de citocinas inflamatórias, como a IL6 e IL8, o que leva a senescência. Porém, em fibroblastos humanos primários, já foi visto que aumentar os níveis de miR-146^a/b podem levar a uma diminuição de IRAK1 e consequentemente das interleucinas (Figura 17) (Munk *et al.*, 2017).

Figura 17 - miRNAs que agem com SASP



Fonte: Adaptado de Munk *et al.*, 2017

8 microRNAs, SENESCÊNCIA CELULAR E SUA RELAÇÃO COM O CÂNCER

Como visto anteriormente, o estado de senescência da célula impede a progressão do ciclo e está relacionado com os miRNAs. Dessa forma, a senescência foi determinada como um importante processo de proteção, a supressão tumoral. Pensando nisso, vamos descrever de forma sucinta sobre o câncer e sua relação com os miRNAs e pontuar a correlação dos miRNAs.

Alguns SASP são capazes de levar a uma promoção da invasão do tumor e de metástases, que conseqüentemente levam a alterações moleculares e estruturais de tecidos. Enquanto outros SASP estimulam a inflamação e tumores malignos. Esses

fatores, direcionam que o estado de senescência de forma prolongada, podem provocar o desenvolvimento de tumores (Suh, 2018).

Foi determinado que os tumores têm alteração na expressão de algum miRNA, isso porque as regiões genômicas que codificam os miRNAs humanos, na carcinogênese, estão alteradas e desreguladas. Os miRNAs que atuam como miRNAs oncogênicos, são chamados de “oncomiRs”, que atuam nos mecanismos de migração e invasão celular, apoptose e proliferação dentro do processo da carcinogênese (Jorge *et al.*, 2021).

Os oncomiRs fazem a ação de forma contrária dos miRNAs de supressão tumoral, eles são caracterizados por uma expressão alta em células cancerígenas o que impede a codificação de genes supressores de tumores, levando a um estímulo da proliferação tumoral, taxas de morte celular, formação de metástase e se relacionando até com o prognóstico do paciente (Jorge *et al.*, 2021).

Dessa forma, é interessante se pensar que os miRNAs oncogênicos podem ser foco de pesquisa para alvos terapêuticos em casos de neoplasia avançados, identificação de subtipos de tumor e até em prognósticos, como citado. Pensando nisso, cada vez mais se tem artigos publicados relacionados a miRNAs e câncer. Segundo Jorge *et al.*, em um período de 7 anos, na base de dados do PubMed® os descritores “miRNA” e “câncer”, tiveram um salto de 2013 que eram 1387 artigos publicados para 2019 com 2737, um aumento praticamente de 100% (Jorge *et al.*, 2021).

Os c-miRNAs são também encontrados sendo expressos pelas células cancerígenas, e são utilizados como meio de comunicação intercelular, afetando a expressão gênica de células distantes, auxiliando na progressão do câncer e nas metástases, neste último caso, facilitando a colonização. Por isso, vem sendo amplamente estudado em quais tipos de tumores podem ser utilizados como biomarcador, prognóstico e resposta terapêutica (Jorge *et al.*, 2021).

Um exemplo de miRNA supressor de tumor é o miR-125b, que tem a capacidade de diminuir a expressão de certos genes, como LIPA, TP53, SCD1, entre outros. Porém, como oncomiR, está presente na maioria das leucemias humanas, como a Leucemia Mielóide Aguda, Leucemia Megacarioblástica Aguda, Leucemia

Mielóide Crônica e Leucemia Linfoblástica Aguda, a ação dele nestes casos é reprimir fatores de diferenciação hematopoiéticos ou atuar diretamente nos promotores de genes de metástases, inibidores de metástases e nos fatores que favorecem a apoptose, desregulando-os (Hussen *et al.*, 2021).

Apesar de tanto já ter sido descrito sobre os oncomiRs, ainda é necessária uma maior compreensão para se utilizá-los como biomarcadores, alvo de terapias, diagnóstico. Por isso, atualmente, muitos estudos vêm sendo feitos para elucidação do potencial dos miRNAs desregulados dentro do câncer, que é um problema de saúde crescente mundial (Hussen *et al.*, 2021).

9 CONCLUSÃO

A presente revisão bibliográfica retratou a relação dos microRNAs com a senescência celular e sua importância de estudos nessa área.

A senescência celular é caracterizada pela interrupção do ciclo celular, em que vários estímulos podem levar à desregulação desse ciclo. A partir disso, há vias fundamentais para a supressão tumoral e homeostase celular, como a via da p53 e p16, sendo proteínas que podem estimular a expressão de genes específicos que acarretam o reparo do DNA ou a apoptose.

Esses mecanismos podem ser regulados por vários RNAs não codificantes, porém, nesta revisão citamos principalmente RNAs de cadeia curta, como os microRNAs. Os miRNAs possuem de 19 a 24 nucleotídeos, e correspondem a moléculas de RNA que não podem realizar a tradução, porém, possuem a capacidade de regulação gênica a partir da ligação com sequências alvos de mRNAs. A regulação de diversos genes pode ser feita por um único miRNA, demonstrando assim, a importância do mesmo em diversas vias.

A compreensão e a elucidação dos mecanismos de envelhecimento celular são essenciais para prevenção e diminuição de casos de patologias associadas, como o câncer e a predisposição a outras doenças por mutações genéticas. Uma problemática que vem se agravando na saúde pública mundial.

A forte relação entre os miRNAs e a senescência demonstra a sua importância e estudos vêm sendo realizados de acordo com a necessidade das doenças estudadas. Assim, é possível ver que o futuro destas pesquisas é talvez a perspectiva de aplicar os miRNAs como biomarcadores de prognóstico e até no tratamento de tumores malignos e em doenças cardíacas.

A expectativa é de que mais pesquisas na área de senescência e sua relação aos miRNAs aumente, pois, a regulação dos miRNAs sobre a senescência pode refletir no conhecimento que auxiliará na compreensão das patologias

REFERÊNCIAS

AMARAL, B. A. DO *et al.* MicroRNAs: biogênese, funções e seu papel potencial na carcinogênese oral. **Odontologia Clínico-Científica (Online)**, [s. l.], v. 2, n. 9, p. 105-119, abr.- jun. 2010.

ARROYO, *et al.* Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Seattle, vol 108, n. 12, p. 5003-5008, 7 março. 2011. DOI: 10.1073/pnas.1019055108. Acesso em: 11 de agosto, 2023.

BARROS, I. I de. **Análise da expressão de RNAs longos não codificantes em tumores metastáticos de câncer de mama**. 2016. Dissertação (Mestrado Pós-Graduação em Genética) - Universidade Federal de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2016. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17135/tde-10012017-095553/publico/MestradoIsabelalchiHaradeBarros.pdf>. Acesso em: 24 de ago. de 2023.

BHASKARAN, M.; MOHAN, M. MicroRNAs: History, Biogenesis, and Their Evolving Role in Animal Development and Disease. **Veterinary Pathology**. [s. l.] v. 4, n. 51, pág. 759–774, jul. 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4013251/pdf/nihms-577967.pdf>. Acesso em: 26 de jun. De 2023.

BIORENDER. [s.l.], 2023. Disponível em: <https://www.biorender.com/>. Acesso em: 16 out. 2023.

BU, H. *et al.* **MicroRNA Regulation of Oxidative Stress-Induced Cellular Senescence**. *Oxid Med Cell Longev*. [s. l.], v. 2017. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/2398696>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28593022/>. Acesso em: 27 de mar. de 2023.

CHEN LL. Linking Long Noncoding RNA Localization and Function. **Trends Biochem Sci**, China, 2016, 9, 761-772, agosto. 2016. DOI: 10.1016/j.tibs.2016.07.003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27499234/>. Acesso em: 02 de maio, 2023.

COSTA, M. C.; LEITÃO, A. L.; ENGUITA, F. J. Biogenesis and Mechanism of Action of Small Non-Coding RNAs: Insights from the Point of View of Structural Biology. **International Journal of Molecular Sciences**, Lisboa, v. 13, n. 8, p. 10268–10295, agosto. 2012. DOI: 10.3390/ijms130810268. Acesso em: 06 de janeiro, 2023.

COWLAND, J. B.; HOTHER, C.; GRØNBAEK, K. MicroRNAs and cancer. **APMIS**, Copenhagen, v. 115, n. 10, p. 1090–1106, outubro. 2007. DOI: 10.1111/j.1600-0463.2007.apm_775.xml.x. Acesso em: 04 de março, 2023.

ESTEIREIRO, A. S. M. **Bases celulares e moleculares do envelhecimento**. 2013. Artigo de revisão (Mestre em Medicina) - Faculdade de medicina da universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal, 2013. Disponível em: <https://estudogeral.uc.pt/bitstream/10316/48072/1/TESE%20BCM envelhecimento.pdf>. Acesso em: 08 de dez. de 2022.

FAURI, J. A. C. **Expressão da Proteína p16 em Melanomas Cutâneos Primários, com e sem metástase em Linfonodo Sentinela**. 2008. Dissertação (Mestre em ciências cirúrgicas). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/15373/000679896.pdf>. Acesso em: 27 de mar. de 2023.

FERNANDES *et al.* Long Non-Coding RNAs in the Regulation of Gene Expression: Physiology and Disease. **Non-Coding RNA**, Universidade de São Paulo, 2019, 5-17, fevereiro. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/ncrna5010017>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2311-553X/5/1/17>. Acesso em: 08 de abr. de 2023.

FERREIRA, C. P. **Modelagem Lógica de Senescência Celular Humana**. 2012. Dissertação (Mestre em física). Universidade Federal de Santa Maria. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/9235/FERREIRA%2c%20CECILIA%20PEROBELLI.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 27 de mar. de 2023.

FORMICHI *et al.* Non-Coding RNAs: Novel Players in Insulin Resistance and Related Diseases. **Int. J. Mol.**, Itália, v. 22. 14, jul. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22147716>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/14/7716> Acesso em: 15 de abr. de 2023.

FRANÇA, N. R. *et al.* Interferência por RNA: Uma nova alternativa para terapia nas doenças reumáticas. **Revs. Bras Reumatol**, São Paulo, v. 6, n. 2010, p. 1-10, 07 jan. 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbr/a/QMNDF9KH6tFqZhXfz6zjfGs/?format=pdf>. Acesso em: 11 abr. 2023.

GARCÍA-SÁNCHEZ, A; GARCIA, F. Gene Silencing Delivery Methods: Lipid-Mediated and Electroporation Transfection Protocols, *[s. l]*, v. 1434, p. 139–151, 1 jan. 2016. DOI: 10.1007/978-1-4939-3652-6_10. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27300536/>. Acesso em: 11 de set. de 2023.

HO *et al.* MicroRNA-Based Diagnosis and Therapy. **International journal of molecular sciences**, [s.l], vol. 23, n. 13, 7167, 28 Jun. 2022. DOI:10.3390/ijms23137167. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35806173/>. Acesso em: 9 de jul. 2023.

HOMACH, S., KRETZ, M. Non-coding RNAs: Classification, Biology and Functioning. (eds) **Non-coding RNAs in Colorectal Cancer**, Alemanha, 2016, v. 937, p. 3-17, agosto. 2016. DOI:https://doi.org/10.1007/978-3-319-42059-2_1. Acesso em: 25 de mar. de 2023.

HSIEH, R. **Expressão da Proteína p16, ciclina D, CDK4 e proteína retinoblastoma no Melanoma Acral Lentiginoso**. 2008. Tese (Mestre em ciências). Faculdade de Medicina de São Paulo, Brasil. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5133/tde-04112008162931/publico/RicardoHsieh.pdf>. Acesso em: 27 de mar. de 2023.

HUSSEN, B. M. *et al.* MicroRNA: A signature for cancer progression. **Elsevier Masson SAS**, Iraque, v. 138, p. 0753-3322, março. 2021. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111528>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332221003139?via%3Dihub>. Acesso em: 20 ago. de 2023.

,

JORGE, A. L. *et al.* **MicroRNAs: entendendo seu papel como reguladores da expressão gênica e seu envolvimento no câncer**. Einstein, São Paulo, v. 19, p. 1-7, jul. 2021. DOI: https://doi.org/10.31744/einstein_journal/2021RB5996. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/eins/a/zMRWzLVCTFsJGx86PtjXgNy/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 26 jun. 2023.

KILIKEVICIUS, A.; MEISTER, G.; COREY, D. R. Reexamining assumptions about miRNA-guided gene silencing. **Nucleic Acids Research**, v. 50, n. 2, p. 617–634, dez., 2021. DOI: 10.1093/nar/gkab1256. Disponível em: <https://academic.oup.com/nar/article/50/2/617/6489965>. Acesso em: 12 de fev. de 2023.

KIM, D. H.; ROSSI, J. J. **RNAi mechanisms and applications**. BioTechniques, v. 44, n. 5, p. 613–616, abr. 2008. DOI: <https://doi.org/10.2144%2F000112792>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2727154/>. Acesso em: 12 de fev. De 2023.

KIM, V. N.; HAN, J.; SIOMI, M. C. Biogenesis of small RNAs in animals. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, Estados Unidos, v. 10, n. 2, p. 126–139, fevereiro. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrm2632>. Acesso em: 11 de maio, 2023.

LEVINE AJ, OREN M: The first 30 years of p53: growing ever more complex. **Nature reviews Cancer**, [s.l.] v. 9, n. 10, p.749-758, 2009.

LI, X. *et al.* O Yin-Yang da resposta ao dano do DNA: papéis na tumorigênese e na senescência celular. **International Journal of Molecular Sciences** , [s.l.], v. 14, n. 2, p. 2431–2448, 25 jan. 2013.

LIANG *et al.* LncRNAs are Involved in the Process of Atherosclerosis at Diverse Levels. **Arq Bras Cardiol** Brasil, 2022, v. 118, n. 6, p. 1134-1140, junho. 2022. DOI: 10.36660/abc.20201383. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9345145/>. Acesso em: 17 de fev. 2023.

MARTINEZ, I. *et al.* miR-29 and miR-30 regulate B-Myb expression during cellular senescence. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s.l.], v. 108, n. 2, p. 522–527, 11 jan. 2011.

MIJIT, M *et al.* Role of p53 in the Regulation of Cellular Senescence. **Biomolecules**, Estados Unidos, v. 8, n. 10, março. 2020. DOI: 10.3390/biom10030420. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32182711/>. Acesso em: 15 de jun. 2023.

MORI M, *et al.* Extracellular miRNAs: From Biomarkers to Mediators of Physiology and Disease. **Cell metabolism**, [s.l.], v. 30, n. 4, p. 656-673. 2020. DOI:10.1016/j.cmet.2019.07.011. Acesso em: 22 de ago. 2023.

MUNK, R *et al.* Senescence-Associated MicroRNAs. *International Review of Cell and Molecular Biology*. v. 334, p. 177-205. 2017. DOI: 10.1016/bs.ircmb.2017.03.008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8436595/pdf/nihms-1739215.pdf>. Acesso em: 12 de ago. de 2023.

NETO, B. R. S. *et al.* (org.) **Medicina: Impactos Científicos e Sociais e Orientação a problema em diversas áreas de Saúde**. Ponta Grossa – PR. Atenas, 2020. 242 p. E-book

NUNES F. M. F. Nomenclatura de microRNAs. In: PEREIRA TC. (org.). **Introdução ao mundo dos microRNAs**. São Carlos-SP, SBG - Editora Cubo, 1ed., cap. 4, p. 89-94.

2015. *E-book*. ISBN: 978-85-89265-21-8. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/342349169> Nomenclatura de microRNAs
Acesso em: 12 ago. 2023.

O'BRIEN, J. *et al.* Overview of MicroRNA Biogenesis. **Mechanisms of Actions, and Circulation. *Frontiers in Endocrinology***, Toronto, 2018, v. 9, n. 402, agosto. 2018. DOI: 10.3389/fendo.2018.00402. Acesso em: 19 de maio, 2023.

O'LOGHLEN, A. *et al.* CBX7 and miR-9 are part of an autoregulatory loop controlling p16INK4a. **Aging Cell**, Londres, v. 14, n. 6, p. 1113–1121, setembro. 2015. DOI: 10.1111/accel.12404. Acesso em: 19 de maio, 2023.

OTAGUIRI, K. K. **Estudo funcional de microRNAs na infecção pelo HTLV-1**. 2013. Dissertação (Mestrado Pós-graduação em Biociências aplicadas à Farmácia) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60135/tde-21062013-140307/> . Acesso em: 29 jul. 2023.

PETERSON, S. M. *et al.* Common features of microRNA target prediction tools. **Frontiers in Genetics**, Estados Unidos, v. 5, n. 18, fevereiro. 2014. DOI: 10.3389/fgene.2014.00023. Acesso em: 26 de abr. 2023.

PIMENTA, V. S. C. *et al.* **Papel da Proteína p53 na Proliferação Neoplásica**. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer. Goiânia, v.9, n.17; p. 1992-2007, 2013. Disponível em: <https://www.conhecer.org.br/enciclop/2013b/CIENCIAS%20AGRARIAS/Papel%20da%20proteina.pdf>. Acesso em: 27 de mar. de 2023.

PISIGNANO, G.; LADOMERY, M. **Epigenetic Regulation of Alternative Splicing: How LncRNAs Tailor the Message. *Non-Coding RNA***. 2021, [s.l.], v. 7, n. 1, pág. 21, 11 mar. 2021 DOI: <https://doi.org/10.3390/ncrna7010021>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8005942/> Acesso em: 27 de mar. de 2023.

PONTING, C. P.; OLIVER, P. L.; REIK, W. Evolution and Functions of Long Noncoding RNAs. **Cell**, [s.l.], 2009, v. 136, n. 4, p. 629–641, fev. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.02.006>. Acesso em: 05 de agosto. 2023.

RAJAGOPAL, T. *et al.* HOTAIR LncRNA: A novel oncogenic propellant in human cancer. **Clinica Chimica Acta**, [s.l.], v. 503, n. 503, p. 1-238, 01 abr. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.12.028>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009898119321977?via%3Dihub>. Acesso em: 02 fev. 2023

RÍO, R. M. **Estudio de la estructura cuaternaria de p53 y el complejo p53/ADN mediante microscopía electrónica**. 2010. Tese (Doutorado em Ciencia Biologia Molecular) - Universidade Autónoma de Madrid, Madrid, 2010. Disponível em: https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/11172/55798_melero_del_rio_roberto.pdf?sequence=1. Acesso em: 01 set. 2023.

ROBINSON R. RNAi therapeutics: how likely, how soon?. **PLoS Biol**, Estados Unidos, 2004, vol 2, ed. 28, 20 de janeiro. 2004. DOI:10.1371/journal.pbio.0020028. Acesso em: 06 de abr. 2023.

ROSSI M, GOROSPE M. Noncoding RNAs Controlling Telomere Homeostasis in Senescence and Aging. Trends. **Mol Med**, Estados Unidos, 2020, v. 26, n. 4, p. 422-433, 28 fevereiro. 2020. DOI: 10.1016/j.molmed.2020.01.010. Acesso em: 10 de jun. de 2023.

SCHMITZ SU, GROTE P, HERRMAN BG. Mechanisms of long noncoding RNA function in development and disease. **Cell Mol Life Sci**, [s.l.], 2016, vol 73, no. 13, p. 2491-509, julho. 2016. DOI: 10.1007/s00018-016-2174-5. Acesso em: 18 de jun. 2023.

SUH, N. MicroRNA controls of cellular senescence. **BMB Reports**, Coreia, 2018, vol. 51, n. 10, p. 493-499, outubro. 2018. DOI: 10.5483/BMBRep.2018.51.10.209. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30269742/>. Acesso em: 20 ago. 2023.

SUN, B. K.; TSAO, H. Small RNAs in development and disease. **Journal of the American Academy of Dermatology**, [s.l.], v. 59, n. 5, p. 725–737, 1 nov. 2008.

TEIXEIRA, I. N. D. O.; GUARIENTO, M. L. **Biologia do envelhecimento: teorias, mecanismos e perspectivas**. Ciênc. saúde coletiva. Curitiba, v. 15, n. 6, setembro. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-81232010000600022>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csc/a/9sQRcQ64fpC8rC3n3ZFJb6q/>. Acesso em: 17 de mar. de 2023.

VALADI, H. *et al.* Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. **Nat Cell Biol**. [s.l.] v. 9, p. 654–659, 2007.

VISHNOI, A.; RANI, S. MiRNA Biogenesis and Regulation of Diseases: An Overview. **Methods in Molecular Biology**, [s.l.], v. 2595, n.1, p. 1–12, 9 novembro. 2016. DOI:https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2823-2_1. Acesso em: 09 de jul. 2023.

YU, CY., KUO, HC. The emerging roles and functions of circular RNAs and their generation. **J Biomed Sci**, Taiwan, v. 26, n. 29, 16 abril. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0523-z>. Disponível em: <https://jbiomedsci.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12929-019-0523-z>. Acesso em: 25 de jun. 2023.

ZHOU, WY. *et al.* Circular RNA: metabolism, functions and interactions with proteins. **Mol Cancer**, v. 19, n. 172, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12943-020-01286-3>. Disponível em: <https://molecular-cancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12943-020-01286-3#Sec3>. Acesso em: 17 de mar. de 2023.