

## Análise abrangente da regulação da expressão dos genes da autofagia por microRNAs

Comprehensive analysis of the regulation of autophagy gene expression by microRNAs

Análisis completo de la regulación de la expresión de genes de autofagia por microRNAs

Recebido: 29/01/2025 | Revisado: 02/03/2025 | Aceito: 16/03/2025 | Publicado: 28/03/2025

**Daniela Beló Brum**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-4244-5706>

Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Brasil

E-mail: [danielabrum@gmail.com](mailto:danielabrum@gmail.com)

**Igor Araujo Vieira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0557-3521>

Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Brasil

E-mail: [igoraraujovieira@unisin.br](mailto:igoraraujovieira@unisin.br)

### Resumo

A autofagia pode ser definida como um mecanismo celular ativado quando alguma organela está envelhecida ou disfuncional, levando à degradação dos seus componentes para fins de geração de energia. Ela atua como supressor tumoral ou oncogênico, assumindo um papel dúbio na tumorigênese. Vários estudos têm descrito alterações na expressão de microRNAs (miRNAs) que modulam o processo autofágico em diferentes tipos tumorais. O objetivo do presente estudo foi revisar conceitos básicos sobre a autofagia, bem como identificar os principais miRNAs que regulam a expressão dos genes envolvidos nesse processo e o seu papel como potenciais biomarcadores tumorais. Para tal, foi feita a busca bibliográfica no *PubMed* e *Scielo* utilizando descritores genéricos. Os bancos de dados públicos *miRTarBase* e *DIANA-TarBase v8* foram utilizados para extrair as interações miRNAs-genes alvo validadas, enquanto o UALCAN permitiu comparar os perfis de expressão gênica dos miRNAs em tecidos normais vs. tumorais. Os genes da autofagia que apresentaram maior número de miRNAs validados como reguladores da sua expressão foram: *ATG1*, *ATG9A*, *ATG16LI* e *SQSTM1*. Também foram encontrados três miRNAs (hsa-miR-16-5p, hsa-miR-20a-5p e hsa-miR-155-5p) que regulam um maior número de genes da autofagia. De modo particular, hsa-miR-20a5p apresentou uma superexpressão significativa em tumores de próstata, mama, pulmão, colorretal e fígado. Em conjunto, estes dados sugerem hsa-miR-20a-5p como o miRNA mais promissor na regulação da autofagia e potencial biomarcador de tumores sólidos, o que requer estudos adicionais para validação do seu papel na tumorigênese.

**Palavras-chave:** Autofagia; microRNAs; Neoplasias; Expressão gênica; Biomarcadores.

### Abstract

Autophagy can be defined as a cellular mechanism activated when an organelle is aged or dysfunctional, leading to the degradation of its components for energy production. It acts as a tumor suppressor or oncogenic mechanism, assuming a dubious role in tumorigenesis. Numerous studies have described alterations in the expression of microRNAs (miRNAs) that modulate the autophagic process in different tumor types. This study aimed to review basic concepts about autophagy and identify the main miRNAs that regulate the expression of autophagy-related genes and their role as potential tumor biomarkers. For this purpose, a bibliographic search was carried out in *PubMed* and *Scielo* using generic terms. The *miRTarBase* and *DIANA-TarBase v8* public databases were used to collect validated miRNA-target gene interactions, while UALCAN allowed comparing the gene expression profiles of selected miRNAs in normal vs. tumors. The autophagy-related genes with the highest number of miRNAs validated as regulators of their expression were *ATG1*, *ATG9A*, *ATG16LI*, and *SQSTM1*. We also found three miRNAs (hsa-miR-16-5p, hsa-miR-20a-5p, and hsa-miR-155-5p) that regulate a greater number of autophagy-related genes. Interestingly, hsa-miR-20a-5p showed significant overexpression in prostate, breast, lung, colorectal, and liver tumors. Taken together, these data suggest hsa-miR-20a-5p as the most outstanding miRNA in the regulation of autophagy and a promising biomarker of solid tumors, which requires further studies to validate its role in tumorigenesis.

**Keywords:** Autophagy; microRNAs; Neoplasms; Gene expression; Biomarkers.

### Resumen

La autofagia se puede definir como un mecanismo celular que se activa cuando algo el orgánulo está envejecido o es disfuncional, lo que lleva a la degradación de su componentes para fines de generación de energía. Actúa como

supresor de tumores o oncogénico, assumindo um papel dudoso en la tumorigénesis. Varios estudios han describieron cambios en la expresión de microARN (miARN) que modulan el proceso Autofagia en diferentes tipos de tumores. El objetivo del presente estudio fue revisar conceptos básicos sobre autofagia, así como identificar los principales miRNAs que regular la expresión de genes implicados en este proceso y su papel como posibles biomarcadores tumorales. Para ello se realizó una búsqueda bibliográfica en el *PubMed* y *Scielo* utilizando descriptores genéricos. Bases de datos públicas e utilizaron *miRTarBase* y *DIANA-TarBase* v8 para extraer las interacciones. genes diana de miARN validados, mientras que UALCAN permitió comparar los perfiles de expresión génica de miARN en tejidos normales vs. tumores. los genes de autofagia que presentó un mayor número de miRNAs validados como reguladores de su expresión fueron: *ATG1*, *ATG9A*, *ATG16L1* y *SQSTM1*. Ellos también fueron encontró 3 miARN (hsa-miR-16-5p, hsa-miR-20a-5p y hsa-miR-155-5p) que regular un mayor número de genes de autofagia. En particular, hsa-miR-20a5p mostró una sobreexpresión significativa en próstata, mama, pulmón, colorrectal e hígado. En conjunto, estos datos sugieren hsa-miR-20a-5p como el miARN más prometedor en la regulación de la autofagia y biomarcador potencial 10 de tumores sólidos, lo que requiere estudios adicionales para validar su papel em tumorigénesis.

**Palabras clave:** Autofagia; microRNAs; Neoplasias; Expresión génica; Biomarcadores.

## 1. Introdução

A autofagia (Macroautofagia), do grego “auto-degradação”, é um mecanismo celular de degradação e reciclagem de organelas e proteínas envelhecidas, malformadas ou defeituosas que ocorre através da via lisossomal (Wang & Klionsky, 2003). O processo da autofagia é dividido em 5 etapas: nucleação, expansão do fagóforo, fechamento do fagóforo, fusão ao lisossomo e degradação (Galluzzi et al., 2015; Cao et al., 2021).

O mecanismo de autofagia é ativado após estresse celular gerado em decorrência de alterações metabólicas, ambientais ou danos em componentes celulares, tendo como objetivos a adaptação e sobrevivência celular. Sua atividade é modulada por genes que codificam proteínas conhecidas como ATGs (*Autophagy-related proteins*), estas proteínas, por sua vez, são controladas pelas vias de proliferação, metabolismo e morte celular (Lamb et al., 2013). Defeitos no mecanismo de autofagia ocasionados por um aumento ou diminuição na expressão das ATGs estão relacionados com o desenvolvimento de diversas patologias, dentre elas o câncer. Através da degradação de materiais intracelulares defeituosos consegue-se obter energia para que ocorra a manutenção da proliferação de células tumorais, podendo promover o desenvolvimento de tumores malignos, bem como a formação de metástases (Galluzzi et al., 2015).

Nas últimas décadas, muitos estudos têm investigado o papel dos RNAs não codificantes (*i.e.* não codificadores de proteínas), porém funcionais, que contribuem para o desenvolvimento de tumores, dentre eles destacam-se os microRNAs (miRNAs) (Iorio & Croce, 2012; Chen et al., 2017). Os miRNAs são pequenas moléculas de RNA não codificantes lineares, que possuem de 18 a 25 nucleotídeos, sendo responsáveis pela regulação pós-transcricional da expressão gênica. Seu mecanismo funciona a partir da ligação (pareamento) principalmente na região 3'UTR dos seus mRNAs-alvo, alterando seu padrão de expressão a nível proteico (Finnegan & Pasquinelli, 2013; Jorge et al., 2021). Os miRNAs são abundantemente expressos em diversos tecidos diferentes e são capazes de regular negativamente a expressão de determinados genes, alterando a fisiologia celular e causando inúmeras patologias (Zhao et al., 2019).

Além disso, tem sido demonstrado que os miRNAs participam da modulação das diferentes etapas da autofagia. Este seria um dos mecanismos através do qual eles participam do processo de evolução da carcinogênese (Yunus & Devrim, 2020). Estudos recentes relacionaram o hsa-miR-30a com uma redução da expressão do gene *BECN1* (codificador da proteína Beclin-1), o qual está envolvido no processo autofágico (Tran et al., 2021). Também foi relatado, através de análises computacionais, o papel dos miRNAs hsa-miR-130, miR-98, miR-124, miR-204 e miR-142 na regulação da autofagia, sendo o miR-130 relacionado com a inibição autofágica na Leucemia Linfóide Crônica (LLC) (Zhai et al., 2013).

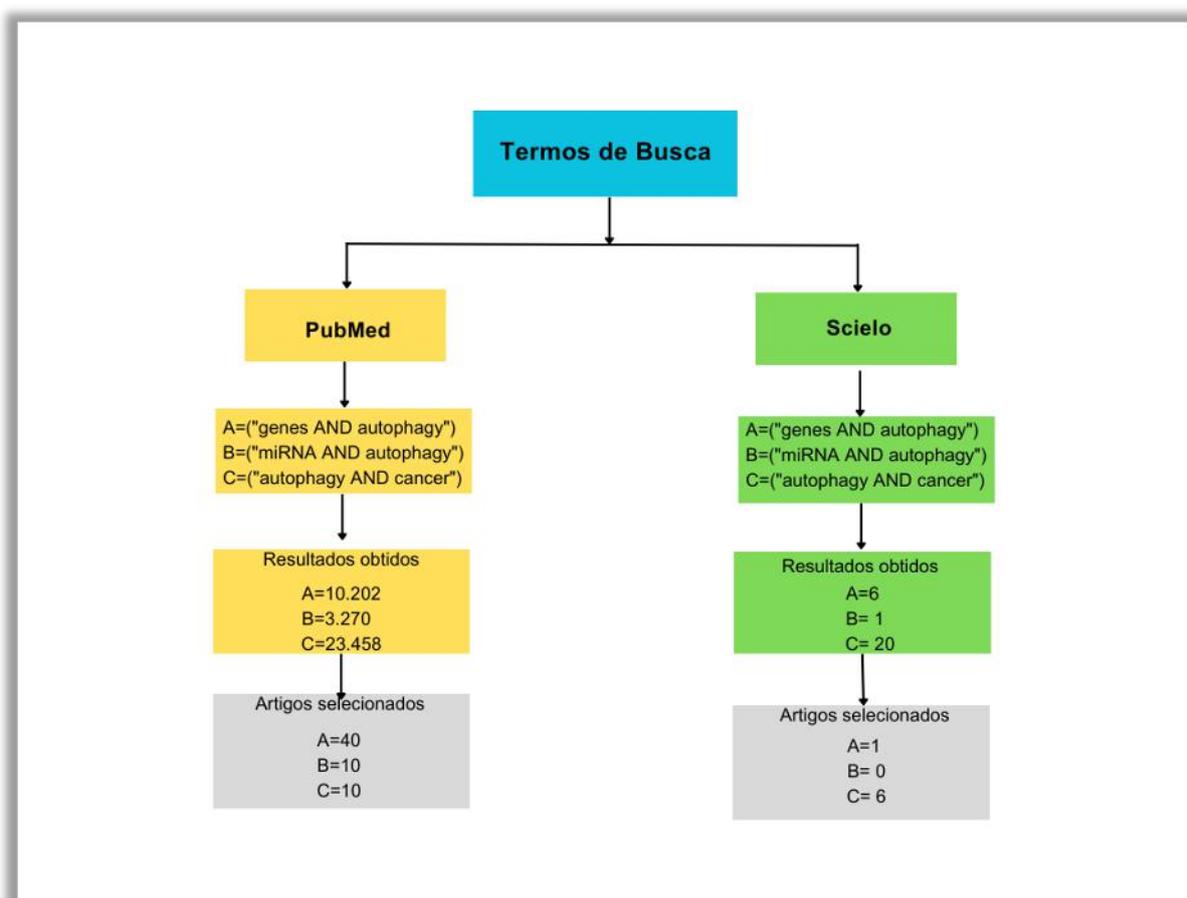
Nesse contexto, o objetivo principal do presente estudo foi ampliar e aprofundar o entendimento acerca das funções que os miRNAs desempenham como moduladores do mecanismo de autofagia celular.

## 2. Metodologia

### 2.1 Busca bibliográfica para revisão de literatura e estratégia para seleção de genes envolvidos na autofagia

O presente estudo consiste em uma revisão exploratória integrativa e de natureza quantitativa na quantidade de artigos selecionados e qualitativa nas análises realizadas (Pereira et al., 2018; Anima, 2014; Crossetti, 2012). Para proceder a revisão sobre autofagia e seu papel na tumorigênese, bem como para selecionar os genes que participam do processo autofágico, visando uma posterior análise utilizando banco de dados públicos de regulação por miRNAs, foi realizada uma busca nos repositórios de artigos *PubMed* e *Scielo*, utilizando as palavras-chave “*genes AND autophagy*”, “*miRNA AND autophagy*”, “*autophagy AND cancer*”, e critérios de inclusão e exclusão (exclusão de artigos incompletos, resenhas e semelhantes) específicos, conforme ilustra a Figura 1 abaixo.

**Figura 1** - Fluxograma da busca bibliográfica.



Fonte: Elaborado pelos Autores.

A seleção dos genes da autofagia a serem estudados foi baseada a partir de um projeto de pesquisa que a aluna (D. B. B.) participou anteriormente chamado “*O papel do crosstalk entre autofagia, senescência e morte celular imunogênica em células de câncer de pulmão na resposta aos quimioterápicos utilizados na prática clínica*”, bem como sua escolha foi validada a partir da leitura de artigos recentes (últimos 10 anos) sobre as bases moleculares do mecanismo de autofagia, conforme mostrado na Tabela 1.

**Tabela 1** - Genes envolvidos no mecanismo de autofagia incluídos no presente estudo.

<b>Genes da autofagia (outras nomenclaturas ainda empregadas)</b>	<b>Referência (nº PMID)</b>
<i>ATG1</i> (ULK1)	32033142
<i>ATG2A</i>	30952800
<i>BECN1</i>	34204202
<i>ATG3</i>	31849517
<i>ATG4</i> (ATG4C)	31083460
<i>ATG5</i>	30900506
<i>ATG7</i>	28933598
<i>ATG9a</i>	31269971
<i>ATG10</i>	34257406
<i>ATG12</i>	34904929
<i>ATG16</i> (ATG16L1)	33127840
<i>MAP1LC3B</i> (LC3)	34829743
<i>SQSTM1</i> (p62)	30499183

Fonte: Dados originais. Elaborado pelos Autores.

## 2.2 Busca em bases de dados de interações entre miRNAs e genes-alvo

A pesquisa acerca dos miRNAs e a sua interação com os mRNA-alvo (derivados dos genes da autofagia) foi baseada nas informações compiladas nos bancos de dados (*databases*) *mirTarBase release 6.1* (Chou et al., 2016; [<http://mirtarbase.mbc.nctu.edu.tw/>]) e *Tarbase v8.0* (Sethupathy et al., 2005; [<https://dianalab.e-ce.uth.gr/html/diana/web/index.php?r=tarbasev8/index/>]), utilizando filtros de busca específicos, tendo como objetivo coletar evidências experimentais de alta qualidade. Ambos os bancos de dados são fontes de interações miRNA-mRNA em humanos com validação experimental (comprovada por técnicas de bancada), reunindo dados de diversas metodologias de biologia molecular e ensaios funcionais (revisado em Elton & Yalowich, 2015).

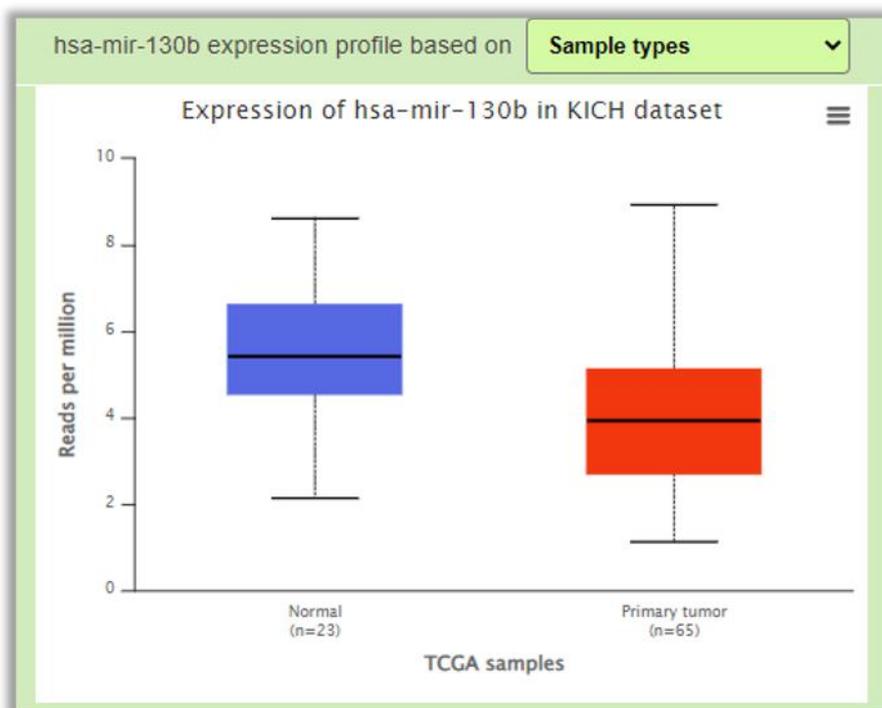
Sabe-se que a ligação dos miRNAs ocorre na região 3'UTR dos mRNAs, sendo baseada em uma complementariedade imperfeita de bases. No entanto, existe uma região de pareamento perfeito do miRNA-alvo chamada “sequência *seed*” que consiste na base teórica do surgimento de ferramentas de bioinformática nesta temática, especialmente aqueles bancos de dados contendo interações preditas computacionalmente entre miRNAs e mRNAs-alvo (Peterson et al., 2014; Chen et al., 2019). Embora exista um número crescente destas ferramentas de predição computacional, tais como *TargetScan* (Agarwal et al., 2015; Grimson et al., 2007) e *mirSVR* (Betel et al., 2010), neste trabalho focamos somente na utilização dos bancos de dados da regulação de miRNAs com comprovação experimental, a fim de restringir o nosso trabalho somente às evidências validadas por metodologias de bancada específicas, tais como *microarray*, *Western Blot*, ensaios funcionais, dentre outros.

## 2.3 Fontes de dados experimentais acerca da expressão gênica em tecidos tumorais

Para avaliação dos níveis da expressão dos genes envolvidos no mecanismo de autofagia nos diferentes tipos tumorais, bem como para a análise de correlação com o perfil de expressão dos respectivos miRNAs inibidores destes genes-alvo, foi utilizada a base de dados UALCAN [<http://ualcan.path.uab.edu/>]. Esta é uma base de dados online de acesso livre, que tem o intuito de fornecer dados -ômicos, especialmente dados de expressão gênica global a nível de mRNAs, miRNAs e proteínas em diferentes tipos de câncer (Chandrashekar et al., 2022).

Para busca dos níveis de expressão dos miRNAs de interesse, foram analisados os dados de cada tipo de tumor separadamente, clicando em “TCGA-miRNA”. Em seguida, foi adicionado no campo de busca a nomenclatura padronizada dos miRNAs e selecionado o filtro por “*expression and sample type*”. Por fim, foi possível acessar um gráfico de comparação da expressão dos miRNAs entre o tecido normal (adjacente ao tumor) e tumoral, semelhante ao exemplo mostrado na Figura 2.

**Figura 2** - Gráfico da expressão de um miRNA de interesse obtido a partir do banco de dados UALCAN.



Fonte: Adaptado de UALCAN [<http://ualcan.path.uab.edu/>].

### 3. Resultados e Discussão

Os dados brutos obtidos a partir dos dois *databases* de interações validadas experimentalmente entre miRNAs e genes alvo da autofagia (*mirTarBase* e *Tarbase*), bem como a análise de sobreposição dos dados brutos intra- e inter *databases* foram compilados em um banco de dados extenso (disponível mediante solicitação aos autores), sendo esta última análise importante como uma primeira etapa de filtragem para identificar os miRNAs que regulavam um maior número de genes relacionados à autofagia.

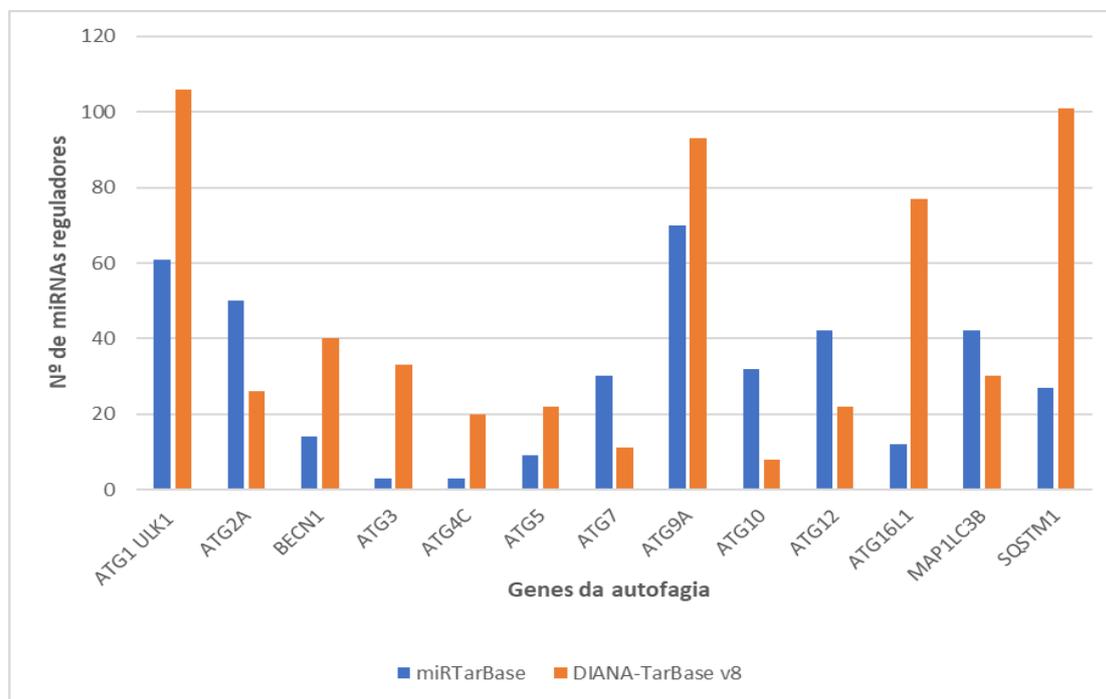
A Tabela 2 e a Figura 3 fornecem uma visualização do quantitativo de dados brutos coletados, apontando os genes da autofagia com um maior e menor número total de miRNAs reguladores conforme cada *database* consultado. Considerando estas fontes de dados, os genes mais fortemente regulados por miRNAs foram *ATG1*, *ATG9A*, *ATG16L1* e *SQSTM1*, enquanto os genes menos regulados por miRNAs foram *ATG4C*, *ATG5*, *ATG7* e *ATG10*.

**Tabela 2** - Genes da autofagia e o número de miRNAs reguladores da sua expressão de acordo com cada *database*.

Gene	Nº de miRNAs reguladores conforme cada <i>database</i>	
	<i>miRTarBase</i>	<i>DIANA TarBase v8</i>
<i>ATG1 (ULK1)</i>	61	106
<i>ATG2A</i>	50	26
<i>BECN1</i>	14	40
<i>ATG3</i>	3	33
<i>ATG4C</i>	3	20
<i>ATG5</i>	9	22
<i>ATG7</i>	30	11
<i>ATG9A</i>	70	93
<i>ATG10</i>	32	8
<i>ATG12</i>	42	22
<i>ATG16L1</i>	12	77
<i>MAP1LC3B</i>	42	30
<i>SQSTM1</i>	27	101
<b>Total de miRNAs/gene</b>	<b>395</b>	<b>589</b>

Fonte: Dados originais. Elaborado pelos Autores.

**Figura 3** - Representação gráfica dos genes da autofagia estudados com maior e menor número de miRNAs reguladores da sua expressão.



Fonte: Elaborado pelos Autores.

Também foi analisado quais miRNAs seriam reguladores da expressão de um maior número de genes da autofagia, considerando o conjunto inicial de genes selecionado para as análises, a fim de permitir a identificação de miRNAs específicos que possivelmente desempenham um papel crítico na modulação do mecanismo autofágico. Conforme indica a Tabela 3, os três miRNAs mais super-representados na regulação dos genes de interesse foram hsa-miR-16-5p (9 dos 13 genes analisados),

hsa-miR-20a-5p (8/13 genes) e hsa-miR-155-5p (8/13 genes). Estes miRNAs representam fortes candidatos que necessitam de validação do seu potencial aplicabilidade como biomarcadores para diagnóstico e prognóstico de tumores, bem como alvos importantes para futuros estudos funcionais avaliando o seu papel na modulação da autofagia nos mecanismos de carcinogênese.

**Tabela 3 - Ranking dos miRNAs reguladores de um maior número de genes da autofagia.**

Nomenclatura do miRNA em humanos	Nº de genes da autofagia regulados	Descrição de todos os genes regulados por este miRNA
hsa-miR-16-5p	9	ATG1; ATG2A; ATG4C; ATG5; ATG9A; ATG10; BECN1; MAP1LC3B; SQSTM1
hsa-miR-20a-5p	8	ATG1; ATG2A; ATG3; ATG4C; ATG7; ATG16L1; MAP1LC3B; SQSTM1
hsa-miR-155-5p	8	ATG3; ATG4C; ATG5; ATG9A; ATG10; ATG16L1; MAP1LC3B; SQSTM1
hsa-let-7a-5p	6	ATG1; ATG4C; ATG7; ATG9A; ATG12; ATG16L1
hsa-miR-7-5p	5	ATG4C; ATG7; ATG9A; ATG16L1; SQSTM1
hsa-miR-107	6	ATG2A; ATG9A; ATG12; ATG16L1; BECN1; SQSTM1
hsa-miR-17-5p	5	ATG1; ATG3; ATG9A; ATG16L1; SQSTM1
hsa-let-7b-5p	5	ATG1; ATG9A; ATG12; ATG16L1; SQSTM1
hsa-miR-424-5p	5	ATG1; ATG9A; ATG12; BECN1; SQSTM1
hsa-miR-103a-3p	5	ATG9; ATG12; ATG16L1; BECN1; SQSTM1
hsa-miR-23b-3p	5	ATG1; ATG3; ATG12; MAP1LC3B; SQSTM1
hsa-miR-106b-5p	5	ATG1; ATG3; ATG16L1; MAP1LC3B; SQSTM1

Fonte: Adaptado dos bancos de dados *mirTarBase release 6.1* e *Tarbase v8.0*.

Nesse cenário, os três miRNAs mais promissores destacados anteriormente foram selecionados para as análises de expressão diferencial utilizando o banco de dados UALCAN, a fim de comparar os seus níveis de expressão entre amostras de tecido normal (adjacente ao tumor) e tecido tumoral primário derivados de diferentes localizações anatômicas (mama, próstata, pulmão, entre outros), restringindo esta análise aos tumores sólidos mais prevalentes na nossa população e/ou que apresentassem maior número amostral no UALCAN.

A partir de uma análise crítica das significâncias estatísticas dos achados de expressão diferencial obtidos neste *database* para os três miRNAs com maior potencial regulatório dos genes da autofagia (Tabela 4), o miRNA hsa-miR-20a-5p foi identificado como significativamente superexpresso em tumores de mama, próstata, pulmão, colorretal e fígado, demonstrando ser o biomarcador mais promissor para rastreamento (*screening*) e diagnóstico precoce dos respectivos tipos tumorais identificado a partir das nossas análises *in silico*. Em outras palavras, hsa-miR-20a-5p apresentou evidências sugestivas de um papel putativo como biomarcador de tumorigênese tecido-específica, sendo que a sua diferença de expressão entre o tecido normal vs. tumores primários foi significativamente aumentada (*upregulated*) na maioria dos tipos tumorais analisados, exceto pele e pâncreas (Tabela 4). Este achado necessita ser validado em estudos baseados em metodologias experimentais complementares às análises *in silico* aqui conduzidas.

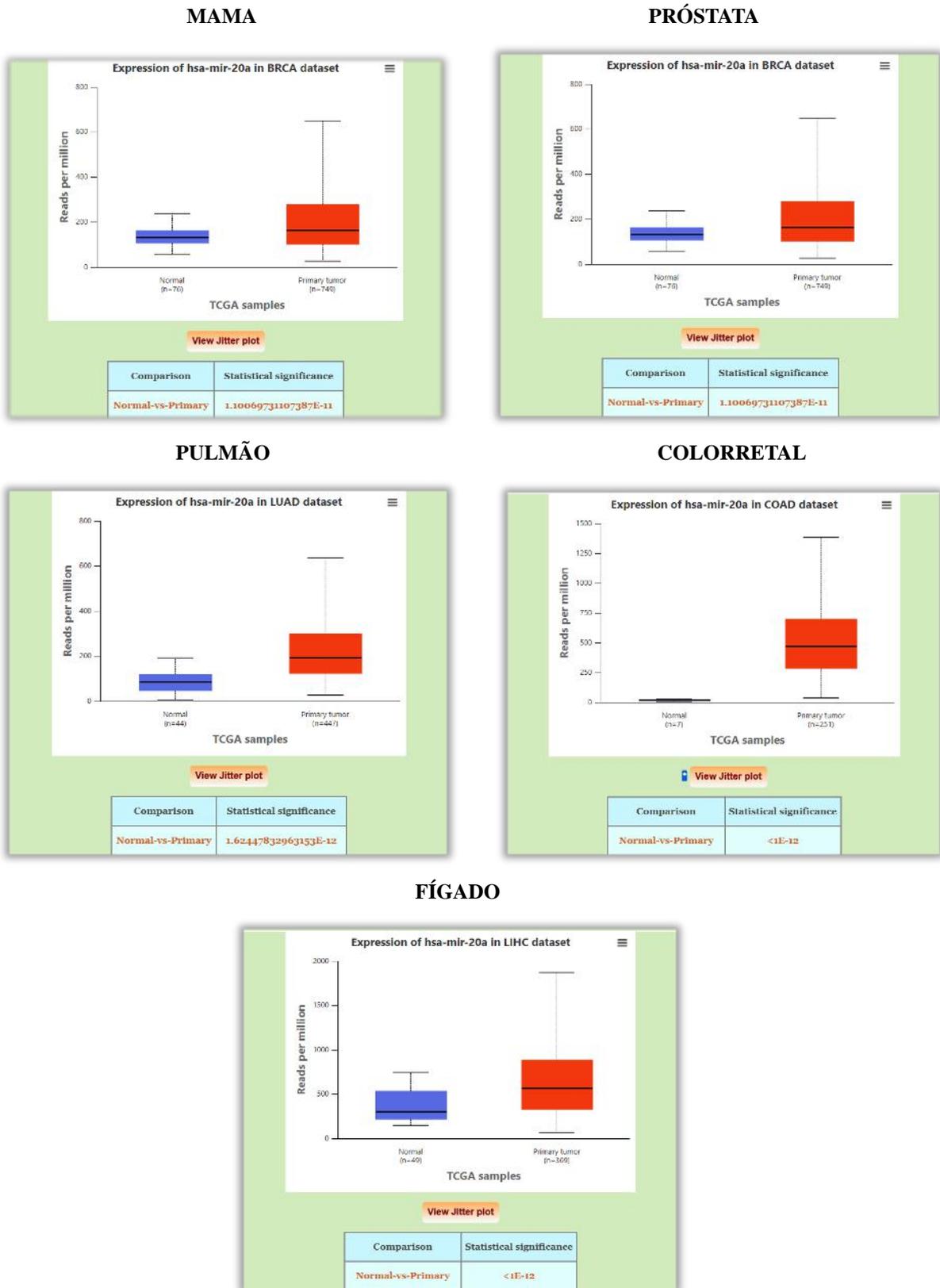
**Tabela 4** - Significância estatística da expressão diferencial de miRNAs reguladores de um maior número de genes da autofagia comparando-se tecido normal vs. tumores primários (dados extraídos do banco de dados UALCAN).

Sítio do tecido tumoral primário	Valores de <i>p</i> da comparação da expressão diferencial dos miRNAs de interesse no tecido normal vs. tumor primário (tipo de alteração na expressão)		
	hsa-miR-16-5p	hsa-miR-20a-5p	hsa-miR-155-5p
<b>Mama</b>	6.735400E-01 (diminuição no tumor)	1.10069731107387E-11 (aumento no tumor)	1.62447832963153E-12 (aumento no tumor)
<b>Próstata</b>	2.88229995426548E-10 (aumento no tumor)	<1E-12 (aumento no tumor)	2.38050000045398E-07 (aumento no tumor)
<b>Pulmão</b>	1.104550E-03 (aumento no tumor)	1.62447832963153E-12 (aumento no tumor)	3.8090999986301E-07 (aumento no tumor)
<b>Colorretal</b>	1.67932334704801E-12 (aumento no tumor)	<1E-12 (aumento no tumor)	7.758900E-03 (aumento no tumor)
<b>Pele</b>	2.381200E-01 (diminuição no tumor)	7.575000E-01 (diminuição no tumor)	7.099600E-01 (diminuição no tumor)
<b>Fígado</b>	1.359830E-03 (aumento no tumor)	<1E-12 (aumento no tumor)	2.949600E-02 (aumento no tumor)
<b>Pâncreas</b>	4.106800E-01 (diminuição no tumor)	4.869200E-01 (diminuição no tumor)	2.420800E-01 (diminuição no tumor)

Fonte: Adaptado de UALCAN.

Os outros dois miRNAs selecionados (hsa-miR-16-5p e hsa-miR-155-5p) também demonstraram diferenças de expressão entre o tecido normal vs. tumor primário, porém a significância estatística global destas alterações de expressão foi menor quando comparada àquela observada para hsa-miR-20a-5p, conforme ilustrado pelos gráficos mostrados na Figura 4. Sendo assim, eles não devem ser descartados como possíveis biomarcadores da tumorigênese e necessitam de estudos adicionais acerca da sua expressão gênica e aspectos funcionais para que possam ser validados como biomarcadores dos tipos tumorais analisados associados com o mecanismo autofágico.

**Figura 4** - Comparação da expressão diferencial do miRNA hsa-miR-20a-5p em tecido normal vs. tecidos tumorais primários de interesse (dados extraídos do banco de dados UALCAN).



Fonte: Adaptado de UALCAN [<http://ualcan.path.uab.edu/>].

Com a evolução técnica e aumento da quantidade de estudos acerca de biomarcadores que possam ajudar na identificação e progressão da tumorigênese na última década, os miRNAs foram ganhando espaço nas pesquisas, sendo identificados com uma expressão aumentada (*upregulated*) ou diminuída (*downregulated*) em diferentes tecidos tumorais (Hill & Tran, 2021). De modo geral, ainda há poucos estudos acerca dos miRNAs aqui destacados, o que abre uma extensa oportunidade para elucidação dos seus papéis no mecanismo da autofagia interligado ao desenvolvimento tumoral.

Dentre os miRNAs destacados neste estudo, o hsa-miR-20a-5p demonstrou previamente ser um potencial biomarcador para o câncer de pulmão não-pequenas células. Conforme o estudo de Latorre e colaboradores (2015), que tinha como objetivo definir um painel adequado de miRNAs que distinguísse os pacientes com câncer de pulmão, doença pulmonar obstrutiva crônica e o grupo controle (sem câncer), foi selecionado um painel de 128 miRNAs; destes, 45 apresentaram-se desregulados na comparação entre o câncer de pulmão e o grupo controle. Para o hsa-miR-20a-5p obteve-se uma significância estatística de  $2,1E-05$  na comparação entre o câncer de pulmão e o grupo controle (Latorre et al., 2015). Este resultado prévio corrobora os nossos achados *in silico* acerca do potencial papel de hsa-miR-20a-5p como um biomarcador de diagnóstico para câncer de pulmão, indicando que as estratégias computacionais adotadas no presente trabalho se mostram adequadas ao serem confrontadas com dados da literatura.

Diversos estudos já demonstraram o importante papel do miRNA hsa-miR-16-5p na tumorigênese. Dentre eles, um artigo de revisão recentemente destacou resultados acerca da sua expressão no osteossarcoma, tendo observado que a sua regulação positiva suprimiu a proliferação, potencial de migração e características invasivas desse tipo tumoral (Ghafouri-Fard et al., 2022). Esse mesmo artigo reporta que esse miRNA exibiu desregulação em células do câncer de fígado. Já em tumores de mama, hsa-miR-16-5p tem se mostrado regulado negativamente, sendo associado à progressão do ciclo celular e redução do mecanismo de apoptose.

Por fim, o miRNA hsa-miR-155-5p foi detectado com níveis elevados de expressão em tumores de mama juntamente à expressão reduzida de receptores hormonais, levando a um prognóstico desfavorável dos pacientes acometidos. Ele foi expresso diferencialmente em diferentes subgrupos do câncer de mama, porém seu maior nível de expressão foi nos tumores do tipo basal e HER2-positivos (Pasculli et al., 2020).

#### 4. Conclusão

O presente estudo desenvolveu uma revisão narrativa de literatura aprofundada sobre o mecanismo da autofagia no câncer, comprovando o seu papel dúbio na tumorigênese. Na revisão foi destacado um conjunto de genes que regulam as diferentes etapas da autofagia, sendo seus principais representantes os genes da família dos ATGs. Estes genes, por sua vez, foram utilizados nas buscas em bases de dados públicas (*miRTarBase*, *DIANA-TarBase v8* e *UALCAN*) para avaliação dos miRNAs reguladores da sua expressão, bem como da sua expressão diferencial em tecidos normais quando comparados aos tumorais, permitindo indiretamente a identificação de miRNAs que atuam como moduladores epigenéticos das diferentes etapas da autofagia (a partir da correlação com o papel de cada gene neste processo), com potenciais implicações na formação de tumores.

Dentre os principais achados do estudo, foi constatado que os genes da autofagia estudados que apresentaram maior número de miRNAs validados como reguladores da sua expressão foram: *ATG1*, *ATG9A* e *SQSTM1*. Também foram encontrados 3 miRNAs que regulam um maior número de genes da autofagia estudados, sendo eles hsa-miR-16-5p, hsa-miR-20a-5p e hsa-miR-155-5p. Destes miRNAs, hsa-miR-20a-5p mostrou nas análises empregando o *database* UALCAN uma superexpressão significativa em tumores de mama, próstata, pulmão, colorretal e fígado. Sendo assim, hsa-miR-20a-5p demonstrou ser o miRNA mais promissor na regulação da autofagia e como potencial biomarcador de diagnóstico de tumores

sólidos. É importante ressaltar que para a comprovação da atuação deste miRNA na regulação da autofagia e desenvolvimento da tumorigênese serão necessários novos estudos experimentais. Nossos achados reforçam a importância das análises *in silico* na geração de novas hipóteses de pesquisa científica e para posterior validação *in vitro* e *in vivo*.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao Professor Dr. Eduardo Cremonese Filippi Chiela por ter nos apresentado esse tema de pesquisa tão relevante que é a autofagia, e por ser uma referência como pesquisador nessa área. Gostaríamos também de agradecer a colaboração dos Professores da Escola de Saúde da UNISINOS, Professora Dra. Mellanie Fontes-Dutra e Professor Dr. Felipe Pellenz, por terem sido avaliadores do trabalho de conclusão de curso, a partir do qual foi originado o presente estudo, e pelas suas valiosas contribuições e sugestões.

## Referências

- Agarwal, V., Bell, G. W., Nam, J.-W., & Bartel, D. P. (2015). Predicting effective microRNA target sites in mammalian mRNAs. *ELife*, 4. <https://doi.org/10.7554/elife.05005>
- Anima. (2014). Manual revisão bibliográfica sistemática integrativa: a pesquisa baseada em evidências. Grupo Anima. [https://biblioteca.cofen.gov.br/wp-content/uploads/2019/06/manual\\_revisao\\_bibliografica-sistematica-integrativa.pdf](https://biblioteca.cofen.gov.br/wp-content/uploads/2019/06/manual_revisao_bibliografica-sistematica-integrativa.pdf).
- Betel, D., Koppal, A., Agius, P., Sander, C., & Leslie, C. (2010). Comprehensive modeling of microRNA targets predicts functional non-conserved and non-canonical sites. *Genome Biology*, 11(8), R90. <https://doi.org/10.1186/gb-2010-11-8-r90>
- Cao, W., Li, J., Yang, K., & Cao, D. (2021). An overview of autophagy: Mechanism, regulation and research progress. *Bulletin Du Cancer*, 108(3), 304–322. <https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2020.11.004>
- Chandrashekar, D. S., Karthikeyan, S. K., Korla, P. K., Patel, H., Shovon, A. R., Athar, M., Netto, G. J., Qin, Z. S., Kumar, S., Manne, U., Creighton, C. J., & Varambally, S. (2022). UALCAN: An update to the integrated cancer data analysis platform. *Neoplasia*, 25, 18–27. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2022.01.001>
- Chen, L., Zhou, Y., Sun, Q., Zhou, J., Pan, H., & Sui, X. (2017). Regulation of Autophagy by MiRNAs and Their Emerging Roles in Tumorigenesis and Cancer Treatment. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 1–26. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2017.03.003>
- Chen, L., Heikkinen, L., Wang, C., Yang, Y., Sun, H., & Wong, G. (2019). Trends in the development of miRNA bioinformatics tools. *Briefings in Bioinformatics*, 20(5), 1836–1852. <https://doi.org/10.1093/bib/bby054>
- Chou, C.-H., Chang, N.-W., Shrestha, S., Hsu, S.-D., Lin, Y.-L., Lee, W.-H., Yang, C.-D., Hong, H.-C., Wei, T.-Y., Tu, S.-J., Tsai, T.-R., Ho, S.-Y., Jian, T.-Y., Wu, H.-Y., Chen, P.-R., Lin, N.-C., Huang, H.-T., Yang, T.-L., Pai, C.-Y., & Tai, C.-S. (2015). miRTarBase 2016: updates to the experimentally validated miRNA-target interactions database. *Nucleic Acids Research*, 44(D1), D239–D247. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1258>
- Crossetti, M. G. M. (2012). Revisión integradora de la investigación en enfermería el rigor científico que se le exige. *Rev. Gaúcha Enferm.* 33(2): 8-9.
- Elton, T. S., & Yalowich, J. C. (2015). Experimental procedures to identify and validate specific mRNA targets of miRNAs. *EXCLI Journal*, 14, 758–790. <https://doi.org/10.17179/excli2015-319>
- Finnegan, E. F., & Pasquinelli, A. E. (2013). MicroRNA biogenesis: Regulating the Regulators. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 48(1), 51–68. <https://doi.org/10.3109/10409238.2012.738643>
- Galluzzi, L., Pietrocola, F., Bravo-San Pedro, J. M., Amaravadi, R. K., Baehrecke, E. H., Cecconi, F., Codogno, P., Debnath, J., Gewirtz, D. A., Karantza, V., Kimmelman, A., Kumar, S., Levine, B., Maiuri, M. C., Martin, S. J., Penninger, J., Piacentini, M., Rubinsztein, D. C., Simon, H.-U., & Simonsen, A. (2015). Autophagy in malignant transformation and cancer progression. *The EMBO Journal*, 34(7), 856–880. <https://doi.org/10.15252/emboj.201490784>
- Grimson, A., Farh, K. K.-H., Johnston, W. K., Garrett-Engele, P., Lim, L. P., & Bartel, D. P. (2007). MicroRNA Targeting Specificity in Mammals: Determinants beyond Seed Pairing. *Molecular Cell*, 27(1), 91–105. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.06.017>
- Hill, M., & Tran, N. (2021). miRNA interplay: mechanisms and consequences in cancer. *Disease Models & Mechanisms*, 14(4). <https://doi.org/10.1242/dmm.047662>
- Iorio, M. V., & Croce, C. M. (2012). MicroRNA dysregulation in cancer: diagnostics, monitoring and therapeutics. A comprehensive review. *EMBO Molecular Medicine*, 4(3), 143–159. <https://doi.org/10.1002/emmm.201100209>
- Jorge AL, Pereira ER, Oliveira CS, Ferreira ES, Menon ET, Diniz SN, et al. MicroRNAs: entendendo seu papel como reguladores da expressão gênica e seu envolvimento no câncer. *einstein* (São Paulo). 2021;19:eRB5996 [https://10.31744/einstein\\_journal/2021RB5996](https://10.31744/einstein_journal/2021RB5996)
- Lamb, C. A., Yoshimori, T., & Tooze, S. A. (2013). The autophagosome: origins unknown, biogenesis complex. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 14(12), 759–774. <https://doi.org/10.1038/nrm3696>

Latorre, I., Leidinger, P., Backes, C., Domínguez, J., Luiza, M., Maldonado, J., Prat, C., Ruiz-Manzano, J., Sánchez, F., Casas, I., Keller, A., Hagen von Briesen, Knobel, H., Meese, E., & Meyerhans, A. (2015). A novel whole-blood miRNA signature for a rapid diagnosis of pulmonary tuberculosis. *European Respiratory Journal/the European Respiratory Journal*, 45(4), 1173–1176. <https://doi.org/10.1183/09031936.00221514>

Pasculli, B., Barbano, R., Fontana, A., Biagini, T., Pia, M., Rendina, M., Vanna Maria Valori, Morritti, M., Bravaccini, S., Ravaioli, S., Maiello, E., Graziano, P., Murgio, R., Massimiliano Copetti, Mazza, T., Vito Michele Fazio, Manel Esteller, & Parrella, P. (2020). Hsa-miR-155-5p Up-Regulation in Breast Cancer and Its Relevance for Treatment With Poly[ADP-Ribose] Polymerase 1 (PARP-1) Inhibitors. *Frontiers in Oncology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01415>

Pereira A. S. et al. (2018). Metodologia da pesquisa científica. [free e-book]. Editora UAB/NTE/UFSM.

Peterson, S. M., Thompson, J. A., Ufkin, M. L., Sathyanarayana, P., Liaw, L., & Congdon, C. B. (2014). Common features of microRNA target prediction tools. *Frontiers in Genetics*, 5. <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00023>

Sethupathy, P. (2005). TarBase: A comprehensive database of experimentally supported animal microRNA targets. *RNA*, 12(2), 192–197. <https://doi.org/10.1261/ma.2239606>

Soudeh Ghafouri-Fard, Tayyebeh Khoshbakht, Bashdar Mahmud Hussien, Abdullah, S., Taheri, M., & Samadian, M. (2022). A review on the role of mir-16-5p in the carcinogenesis. 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12935-022-02754-0>

Soudeh Ghafouri-Fard, Tayyebeh Khoshbakht, Hussien, B. M., Jamal, H. H., Taheri, M., & Mohammadreza Hajiesmaeili. (2022). A Comprehensive Review on Function of miR-15b-5p in Malignant and Non-Malignant Disorders. *Frontiers in Oncology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.870996>

Tran, S., Fairlie, W. D., & Lee, E. F. (2021). BECLIN1: Protein Structure, Function and Regulation. *Cells*, 10(6), 1522. <https://doi.org/10.3390/cells10061522>

Wang, C.-W., & Klionsky, D. J. (2003). The Molecular Mechanism of Autophagy. *Molecular Medicine*, 9(3-4), 65–76. <https://doi.org/10.1007/bf03402040>

Yunus Akkoc, & Devrim Gozuacik. (2020). MicroRNAs as major regulators of the autophagy pathway. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1867(5), 118662–118662. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2020.118662>

Zhai, H., Fesler, A., & Ju, J. (2013). MicroRNA: a third dimension in autophagy. *Cell Cycle*, 12(2), 246–250. <https://doi.org/10.4161/cc.23273>

Zhao, Y., Wang, Z., Zhang, W., & Zhang, L. (2019). MicroRNAs play an essential role in autophagy regulation in various disease phenotypes. *BioFactors*, 45(6), 844–856. <https://doi.org/10.1002/biof.1555>