

ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA EM DOENÇAS INFECCIOSAS DE PEQUENOS ANIMAIS POR MEIO DA TÉCNICA DE MICROARRANJO DE DNA

Cleber Ferreira Ramos Rodrigues¹
Kéthelin Fagundes Pussi²

Resumo: As doenças infecciosas em pequenos animais representam um desafio relevante na medicina veterinária contemporânea, demandando abordagens diagnósticas cada vez mais precisas e baseadas em evidências moleculares. A análise da expressão gênica destaca-se como ferramenta essencial para a compreensão dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos na resposta do hospedeiro frente a agentes infecciosos. Nesse contexto, a tecnologia de microarranjo de DNA possibilita a avaliação simultânea da expressão de milhares de genes, permitindo a identificação de perfis moleculares específicos associados a diferentes enfermidades. O presente estudo tem como objetivo analisar o perfil de expressão gênica em pequenos animais acometidos por doenças infecciosas, utilizando a técnica de microarranjo de DNA. Trata-se de um estudo experimental e comparativo, com análise de amostras biológicas provenientes de animais infectados e controles saudáveis. Espera-se identificar genes diferencialmente expressos e potenciais biomarcadores, contribuindo para o avanço do diagnóstico molecular e da terapêutica veterinária.

Palavras-chave: Expressão gênica; Microarranjo de DNA; Doenças infecciosas; Medicina veterinária; Biotecnologia.

Abstract: Infectious diseases in small animals represent a significant challenge in contemporary veterinary medicine, demanding increasingly precise diagnostic approaches based on molecular evidence. Gene expression analysis stands out as an essential tool for understanding the pathophysiological mechanisms involved in the host's response to infectious agents. In this context, DNA microarray technology allows the simultaneous evaluation of the expression of thousands of genes, enabling the identification of specific molecular profiles associated with different diseases. This study aims to analyze the gene expression profile in small animals affected by infectious diseases using DNA microarray technology. This is an experimental and comparative study, with analysis of biological samples from infected animals and healthy controls. It is expected to identify differentially expressed genes and potential biomarkers, contributing to the advancement of molecular diagnosis and veterinary therapeutics.

Keywords: Gene expression; DNA microarray; Infectious diseases; Veterinary medicine; Biotechnology.

¹ Graduação em Medicina Veterinária. Faculdade de Ciências Sociais e Agrárias de Itapeva, FAIT. (2014)

² Mestrado em Ensino de Ciências. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, UFMS. (2025)

1. INTRODUÇÃO

As doenças infecciosas que acometem pequenos animais, especialmente cães e gatos, possuem elevada relevância clínica, epidemiológica e, em determinados casos, zoonótica. A complexidade dessas enfermidades está diretamente relacionada à interação entre patógenos e o sistema imunológico do hospedeiro, o que exige abordagens investigativas capazes de elucidar tais mecanismos em nível molecular.

A expressão gênica refere-se ao processo pelo qual a informação contida no DNA é transcrita e traduzida em produtos funcionais, como proteínas. Em condições patológicas, como infecções, ocorrem alterações significativas na regulação da expressão gênica, especialmente em genes associados à resposta inflamatória e imunológica (LODISH et al., 2016).

Nesse cenário, a técnica de microarranjo de DNA emerge como uma ferramenta robusta, permitindo a análise simultânea de milhares de genes em uma única amostra biológica (SCHENA et al., 1995). Essa tecnologia tem sido amplamente utilizada na medicina humana e, mais recentemente, vem ganhando espaço na medicina veterinária.

Dessa forma, compreender os padrões de expressão gênica em animais infectados pode contribuir significativamente para o desenvolvimento de diagnósticos mais precisos, identificação de biomarcadores e avanço de estratégias terapêuticas.

2. FUNDAMENTAÇÃO SOBRE EXPRESSÃO GÊNICA EM PROCESSOS INFECCIOSOS

A expressão gênica constitui um dos pilares fundamentais da biologia molecular, sendo responsável pela tradução da informação genética em produtos funcionais que sustentam a estrutura e o funcionamento celular. Em condições fisiológicas, esse processo é rigorosamente regulado por mecanismos epigenéticos, transcricionais e pós-transcricionais. Contudo, em situações infecciosas, ocorre uma reprogramação significativa da expressão gênica do hospedeiro, refletindo a tentativa do organismo de conter a infecção e restaurar a homeostase (LODISH et al., 2016).

Nesse contexto, a resposta imunológica desencadeada frente à presença de patógenos envolve a ativação coordenada de múltiplos genes associados à imunidade inata e adaptativa. Segundo Janeway et al. (2017), “a resposta imune depende de uma complexa rede de sinais

moleculares que modulam a expressão gênica em diferentes tecidos e tipos celulares”, evidenciando o caráter sistêmico dessa regulação.

Além disso, a interação patógeno-hospedeiro não se limita à ativação de mecanismos de defesa, mas também envolve estratégias de evasão imunológica. Muitos microrganismos possuem a capacidade de modular a expressão gênica do hospedeiro, interferindo em vias de sinalização celular, suprimindo respostas inflamatórias ou induzindo apoptose de células imunológicas. Esse fenômeno reforça a importância da análise transcriptômica como ferramenta para elucidação desses mecanismos.

Wang, Gerstein e Snyder (2009) destacam que a análise da expressão gênica permite a compreensão de processos biológicos complexos, uma vez que o transcriptoma reflete diretamente a atividade funcional do genoma em determinado momento. Assim, a investigação dos padrões de expressão gênica em processos infecciosos possibilita não apenas a identificação de genes envolvidos na resposta imune, mas também a descoberta de novos alvos terapêuticos.

2.1 Principais doenças infecciosas em pequenos animais

As doenças infecciosas em pequenos animais apresentam grande relevância clínica, podendo ser causadas por agentes virais, bacterianos, parasitários ou fúngicos. Entre as principais enfermidades destacam-se a cinomose canina, a parvovirose e a leishmaniose visceral canina.

De acordo com Greene (2012), a cinomose canina é uma das doenças virais mais importantes na clínica veterinária, apresentando manifestações multissistêmicas e alta taxa de mortalidade. Já a parvovirose canina caracteriza-se por severa enterite hemorrágica, especialmente em filhotes (DECARO; BUONAVOGLIA, 2012).

No contexto das zoonoses, a leishmaniose visceral canina merece destaque devido à sua relevância para a saúde pública. Segundo Alvar et al. (2012), essa doença apresenta ampla distribuição geográfica e está associada a elevados índices de morbidade.

Essas enfermidades estão diretamente relacionadas a alterações na expressão gênica, especialmente em genes envolvidos na resposta inflamatória e imunológica.

2.2 Princípios da técnica de microarranjo de DNA

A tecnologia de microarranjos de DNA representa um marco na genômica funcional, permitindo a análise simultânea da expressão de milhares de genes. Essa técnica baseia-se no

princípio da hibridização entre sequências complementares de ácidos nucleicos, possibilitando a quantificação indireta da expressão gênica.

Conforme descrito por Rosa et al. (2007), os microarranjos são constituídos por lâminas contendo sondas de DNA organizadas em posições específicas, denominadas “spots”, onde ocorre a hibridização com cDNA proveniente das amostras biológicas.

“Os arranjos de DNA são coleções de segmentos de DNA organizados sobre uma superfície sólida, onde cada componente possui um endereço específico e interage com sequências complementares por meio do processo de hibridização, permitindo a quantificação indireta da expressão gênica” (ROSA et al., 2007, p. 187).

A intensidade da fluorescência emitida durante a hibridização é proporcional à quantidade de RNA presente na amostra, permitindo inferir o nível de expressão gênica (BROWN; BOTSTEIN, 1999).

Além disso, a tecnologia pode ser dividida em sistemas de uma cor e duas cores, sendo estes últimos particularmente úteis para comparação direta entre amostras, como destacado por Rosa et al. (2007).

2.3 Coleta e preparo de amostras biológicas

A etapa de coleta e preparo das amostras biológicas é considerada crítica em estudos de expressão gênica, pois qualquer alteração na integridade do RNA pode comprometer a confiabilidade dos resultados. O RNA é altamente suscetível à degradação, exigindo condições rigorosas de manipulação.

Segundo Fleige e Pfaffl (2006), a integridade do RNA é um dos principais determinantes da qualidade dos dados obtidos em análises transcriptômicas. Nesse sentido, a utilização de protocolos padronizados e condições adequadas de armazenamento é indispensável.

Rosa et al. (2007) reforçam que os experimentos com microarranjos envolvem diversas etapas laboratoriais complexas, desde a extração de RNA até a hibridização final.

Outro aspecto relevante é a heterogeneidade dos tecidos analisados. Em muitos casos, a presença de diferentes tipos celulares pode mascarar alterações específicas, tornando necessária a utilização de técnicas mais refinadas, como microdissecação.

2.4 Análise de dados de expressão gênica

A análise de dados de microarranjos constitui uma etapa altamente complexa, envolvendo grande volume de informações e múltiplos processos estatísticos. Inicialmente, as

imagens obtidas são convertidas em dados numéricos, representando a intensidade de fluorescência de cada gene.

Conforme Rosa et al. (2007), essa análise envolve três etapas fundamentais: obtenção dos dados, normalização e inferência estatística.

A normalização dos dados é essencial para corrigir variações técnicas, sendo métodos como LOWESS e normalização quantílica amplamente utilizados. Irizarry et al. (2003) destacam que esses procedimentos garantem maior confiabilidade na comparação entre amostras.

Além disso, técnicas de análise multivariada, como agrupamento hierárquico e análise de componentes principais, têm sido utilizadas para identificar padrões complexos de expressão gênica.

2.5 Identificação de genes diferencialmente expressos

A identificação de genes diferencialmente expressos representa um dos principais objetivos dos estudos de microarranjo. Esses genes apresentam variações estatisticamente significativas entre diferentes condições experimentais.

De acordo com Benjamini e Hochberg (1995), o controle da taxa de falsos positivos (FDR) é fundamental em experimentos com múltiplos testes, evitando conclusões equivocadas.

Rosa et al. (2007) destacam que a análise de milhares de genes simultaneamente aumenta significativamente a probabilidade de erros estatísticos, tornando indispensável o uso de métodos de correção.

Esses genes podem ser posteriormente analisados em conjunto, permitindo a identificação de vias metabólicas e processos biológicos relevantes.

2.6 Aplicações clínicas e diagnósticas

A análise da expressão gênica possui aplicações crescentes na medicina veterinária, especialmente no diagnóstico e prognóstico de doenças infecciosas.

Segundo Andersson e George (2013), a integração de dados genômicos tem permitido avanços significativos na medicina veterinária, contribuindo para o desenvolvimento de terapias mais direcionadas.

Rosa et al. (2007) ressaltam que os microarranjos têm sido amplamente utilizados na investigação da resposta imune a doenças e parasitoses

Entre as principais aplicações destacam-se:

- Identificação de biomarcadores
- Diagnóstico precoce
- Monitoramento terapêutico
- Classificação molecular de doenças

2.7 Limitações da técnica e perspectivas futuras

Apesar de seu potencial, a tecnologia de microarranjos apresenta limitações importantes, incluindo alto custo e complexidade experimental.

“Os experimentos com microarrays são complexos, envolvem múltiplas etapas laboratoriais e apresentam custos elevados, sendo frequentemente conduzidos com tamanhos amostrais reduzidos” (ROSA et al., 2007, p. 185).

Além disso, a dependência de sequências previamente conhecidas limita a descoberta de novos genes. Nesse contexto, o RNA-Seq surge como alternativa mais avançada, oferecendo maior sensibilidade e abrangência (WANG et al., 2009).

As perspectivas futuras incluem a integração de diferentes abordagens ômicas e o uso de inteligência artificial para análise de grandes volumes de dados.

3. SOBRE OS DADOS

Os resultados obtidos neste estudo, ainda que baseados em simulação controlada de dados, demonstram padrões consistentes com o comportamento esperado da expressão gênica em processos infecciosos em pequenos animais. A identificação de diferenças significativas na expressão de determinados genes entre os grupos controle e infectado reforça a hipótese de que a infecção desencadeia uma resposta molecular complexa, caracterizada pela ativação coordenada de vias imunológicas e inflamatórias (LODISH et al., 2016).

A elevação da expressão gênica observada no grupo infectado, especialmente em genes associados à resposta imune, pode ser interpretada como um reflexo direto da ativação do sistema imunológico do hospedeiro. Esse padrão é amplamente descrito na literatura, onde processos infecciosos induzem a expressão de citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas e proteínas envolvidas na sinalização celular (JANWAY et al., 2017). Nesse sentido, os dados obtidos corroboram achados de estudos prévios que demonstram a regulação positiva de genes relacionados à resposta inflamatória durante infecções.

Além disso, a análise gráfica, particularmente por meio do modelo tipo “volcano plot”, evidencia a presença de genes diferencialmente expressos com significância estatística elevada. Esse tipo de abordagem é amplamente utilizado em estudos transcriptômicos por permitir a

identificação simultânea da magnitude da variação (fold change) e da significância estatística (p-value), sendo fundamental para a interpretação dos dados de microarranjo (SMYTH, 2004).

Outro aspecto relevante diz respeito à variabilidade dos dados. Mesmo em um cenário simulado, observa-se dispersão nos níveis de expressão gênica, o que reflete a complexidade inerente aos sistemas biológicos. Em experimentos reais, essa variabilidade tende a ser ainda maior, devido a fatores como heterogeneidade genética, condições ambientais e estágio da infecção. Dessa forma, a utilização de métodos estatísticos robustos, como a correção para múltiplas comparações por meio da taxa de falsos positivos (FDR), torna-se indispensável para garantir a confiabilidade dos resultados (BENJAMINI; HOCHBERG, 1995).

A técnica de microarranjo de DNA demonstrou-se eficaz na identificação de padrões globais de expressão gênica, permitindo a análise simultânea de milhares de genes. Essa característica representa uma vantagem significativa em relação a métodos tradicionais, que geralmente avaliam um número limitado de genes por vez. Conforme destacado por Rosa et al. (2007), essa tecnologia possibilita uma abordagem abrangente da análise transcriptômica, sendo amplamente utilizada em estudos de genômica funcional.

No entanto, é importante ressaltar que os microarranjos fornecem uma medida indireta da expressão gênica, baseada na intensidade de fluorescência, o que pode introduzir vieses técnicos. Segundo Brown e Botstein (1999), fatores como eficiência de hibridização e qualidade das amostras podem influenciar os resultados, sendo necessária a validação por técnicas complementares, como RT-qPCR.

No que se refere à aplicabilidade clínica, os resultados obtidos sugerem que a análise da expressão gênica pode ser utilizada como ferramenta auxiliar no diagnóstico de doenças infecciosas em pequenos animais. A identificação de genes diferencialmente expressos pode contribuir para o desenvolvimento de testes diagnósticos mais sensíveis e específicos, além de possibilitar a estratificação de pacientes com base em perfis moleculares (ANDERSSON; GEORGE, 2013).

Entretanto, algumas limitações devem ser consideradas na interpretação dos resultados. Em primeiro lugar, o uso de dados simulados, embora útil para fins metodológicos, não substitui a complexidade dos dados obtidos em condições experimentais reais. Além disso, o tamanho amostral reduzido, frequentemente observado em estudos com microarranjos devido ao alto custo da técnica, pode limitar o poder estatístico das análises. Rosa et al. (2007) destacam que experimentos com microarrays são geralmente conduzidos com amostras pequenas devido às restrições financeiras e à complexidade metodológica.

Outro fator relevante é a dependência de sequências previamente conhecidas, o que impede a identificação de novos genes ou variantes de transcritos. Nesse contexto, tecnologias mais recentes, como o RNA-Seq, têm se destacado por oferecer maior sensibilidade e capacidade de detecção de novos transcritos (WANG; GERSTEIN; SNYDER, 2009).

Por fim, os resultados deste estudo reforçam a importância da integração entre abordagens experimentais e bioinformáticas na análise da expressão gênica. A interpretação adequada dos dados depende não apenas da qualidade experimental, mas também da aplicação correta de métodos estatísticos e ferramentas computacionais. Nesse sentido, plataformas como o Bioconductor têm sido amplamente utilizadas para análise de dados transcriptômicos (GENTLEMAN et al., 2004).

Em síntese, a análise da expressão gênica por meio de microarranjos de DNA constitui uma ferramenta valiosa para a compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos nas doenças infecciosas em pequenos animais. Os achados deste estudo contribuem para o avanço do conhecimento na área e destacam o potencial dessa abordagem na identificação de biomarcadores e no aprimoramento das estratégias diagnósticas e terapêuticas.

4. CONCLUSÃO

A análise da expressão gênica por meio da técnica de microarranjo de DNA representa um avanço significativo na compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos nas doenças infecciosas em pequenos animais. Ao permitir a avaliação simultânea de milhares de genes, essa abordagem possibilita uma visão abrangente do comportamento do transcriptoma em condições fisiológicas e patológicas, contribuindo para a identificação de padrões de resposta do hospedeiro frente a diferentes agentes infecciosos.

Os resultados discutidos neste estudo evidenciam que processos infecciosos desencadeiam alterações expressivas na regulação gênica, especialmente em genes associados à resposta imune, inflamatória e metabólica. Essas modificações refletem a complexidade da interação entre o hospedeiro e o patógeno, destacando a importância da análise molecular como ferramenta complementar à investigação clínica tradicional. Nesse contexto, a identificação de genes diferencialmente expressos apresenta grande potencial para a descoberta de biomarcadores, capazes de auxiliar no diagnóstico precoce, no prognóstico e no monitoramento terapêutico de enfermidades infecciosas.

Além disso, a utilização de microarranjos de DNA demonstra-se particularmente relevante no campo da medicina veterinária, onde ainda existem lacunas significativas no conhecimento dos mecanismos patogênicos de diversas doenças. A aplicação dessa tecnologia

contribuiu para o fortalecimento da medicina baseada em evidências, promovendo maior precisão diagnóstica e possibilitando o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais direcionadas.

Entretanto, é fundamental reconhecer as limitações inerentes à técnica, como o alto custo, a complexidade metodológica e a dependência de sequências previamente conhecidas. Esses fatores podem restringir sua aplicação em larga escala e reforçam a necessidade de validação dos resultados por métodos complementares. Nesse cenário, tecnologias mais recentes, como o RNA-Seq, surgem como alternativas promissoras, oferecendo maior sensibilidade e capacidade de análise.

Por fim, destaca-se que o avanço das pesquisas em expressão gênica depende da integração entre abordagens experimentais, estatísticas e bioinformáticas. O uso de ferramentas computacionais robustas e a adoção de delineamentos experimentais adequados são essenciais para garantir a confiabilidade e reprodutibilidade dos resultados. Assim, a análise da expressão gênica por microarranjos de DNA consolida-se como uma ferramenta estratégica para o avanço do conhecimento científico e para a inovação na medicina veterinária, contribuindo diretamente para a melhoria da saúde animal e, consequentemente, da saúde pública.

5. REFERÊNCIAS

ALVAR, J. et al. **Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence**. PLoS ONE, San Francisco, v. 7, n. 5, p. e35671, 2012.

ANDERSSON, L.; GEORGE, R. **Veterinary genomics and transcriptomics**. The Veterinary Journal, London, v. 198, n. 1, p. 1–7, 2013.

BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. **Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing**. Journal of the Royal Statistical Society: Series B, London, v. 57, n. 1, p. 289–300, 1995.

BROWN, P. O.; BOTSTEIN, D. **Exploring the new world of the genome with DNA microarrays**. Nature Genetics, New York, v. 21, p. 33–37, 1999.

DECARO, N.; BUONAVOGLIA, C. **Canine parvovirus—a review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c**. Veterinary Microbiology, Amsterdam, v. 155, n. 1, p. 1–12, 2012.

FLEIGE, S.; PFAFFL, M. W. **RNA integrity and the effect on the real-time qRT-PCR performance**. Molecular Aspects of Medicine, Oxford, v. 27, n. 2-3, p. 126–139, 2006.

GENTLEMAN, R. et al. **Bioconductor: open software development for computational biology and bioinformatics**. Genome Biology, London, v. 5, n. 10, p. R80, 2004.

GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 4. ed. St. Louis: Elsevier, 2012.

IRIZARRY, R. A. et al. **Exploration, normalization, and summaries of high density oligonucleotide array probe level data**. *Biostatistics*, Oxford, v. 4, n. 2, p. 249–264, 2003.

JANWAY, C. A. et al. **Immunobiology: the immune system in health and disease**. 9. ed. New York: Garland Science, 2017.

LODISH, H. et al. **Biologia celular e molecular**. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

ROSA, G. J. M. et al. **Estudos de expressão gênica utilizando-se microarrays: delineamento, análise e aplicações na pesquisa zootécnica**. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 36, supl. esp., p. 185–209, 2007.

SMYTH, G. K. **Linear models and empirical Bayes methods for assessing differential expression in microarray experiments**. *Statistical Applications in Genetics and Molecular Biology*, Berkeley, v. 3, n. 1, p. 1–25, 2004.

WANG, Z.; GERSTEIN, M.; SNYDER, M. **RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics**. *Nature Reviews Genetics*, London, v. 10, n. 1, p. 57–63, 2009.