

METAPESQUISA DA IMPORTÂNCIA DOS MICROARRANJOS NA SOLUÇÃO DE PROBLEMAS CLÍNICOS

FABRICIO PAES DE MEDEIROS ¹

OROZIMBO FURLAN JUNIOR ²

CARLA REGINA COSTA FURLAN ³

RESUMO

Os microarranjos tem muitas validações cruzadas devido ao mapeamento do transcriptoma, que resolvem problemas de especificidade e sensibilidade em relação as técnicas moleculares mais usadas, tornando possível o diagnóstico através de uma única biópsia líquida, de múltiplas patologias, hereditárias e ou adquiridas, simultaneamente e instantaneamente. Com capacidade de testar inúmeros pacientes por mês, em lâminas de alta qualidade, miniaturizadamente impressas com sondas moleculares, que precisam apenas de microlitros (μ l) de amostra para serem processadas. A presente metapesquisa apresenta aplicações clínicas potenciais dos microarranjos que sofreram avanços e ou inovações em robótica, capacidades computacionais ou mesmo suas respectivas plataformas, cujo seus adventos coincidiram com o aumento das informações genômicas disponíveis em bancos de dados públicos, solucionando assim problemas clínicos mais eficazmente e até mesmo de forma portátil. Além do aumento da sua importância em grandes baterias de testes, como as exigidas durante uma epidemia ou pandemia, para o diagnóstico e mesmo para desenvolvimento de vacinas e descobrimento de novos ligantes moleculares para sítios de alvos terapêutico.

Palavras chave: Microarranjo. Patologia Clínica. Bioinformática. Transcriptoma. Metapesquisa.

¹ Acadêmico do Curso de Farmácia, 10º fase pelo Centro Universitário UNIFACVEST.

² Mestre em química, coordenador do Curso de Farmácia, Orientador do presente trabalho pelo Centro Universitário UNIFACVEST.

³ Professor do Curso de Farmácia, Co-orientador do presente trabalho pelo Centro Universitário UNIFACVEST.

META-RESEARCH OF THE IMPORTANCE OF MICRO-ARRANGEMENTS IN SOLVING CLINICAL PROBLEMS

FABRICIO PAES DE MEDEIROS ¹

OROZIMBO FURLAN JUNIOR ²

CARLA REGINA COSTA FURLAN ³

ABSTRACT

Microarrays have many cross-validations due to the transcriptome mapping, which solves problems of specificity and sensitivity in relation to the most used molecular techniques, making possible the diagnosis through a single liquid biopsy, of multiple pathologies, hereditary and or acquired, simultaneously and instantly. With the capacity to test countless patients per month, on high quality slides, miniaturized supplied with molecular probes, which only needs microliters (μl) of sample to be processed. This meta-research presents potential clinical applications of microarrays that have undergone advances and or innovations in robotics, computational resources or even their platforms, whose advances have coincided with the increase in genomic information available in public databases, thus solving clinical problems more effectively and even in a portable ways. In addition to increasing its importance in large test batteries, such as those required during an epidemic or pandemic, for diagnosis and even for the development of vaccines and the discovery of new molecular ligands for therapeutic target sites.

Key words: Microarray, Clinical Pathology, Bioinformatics, Transcriptome, Meta-research.

¹ Academic of the Pharmacy Course, 10th stage by the University Center UNIFACVEST.

² Master's in chemistry, Coordinator of the Pharmacy Course, Advisor of the present work by the University Center UNIFACVEST.

³ Professor of the Pharmacy Course, Co-supervisor of the present work by the University Center UNIFACVEST.

1. INTRODUÇÃO

O objetivo dos microarranjos é compreender os aspectos fundamentais que sublinham o crescimento e desenvolvimento da vida, bem como explorar as causas genéticas das anomalias ocorrendo no funcionamento do transcriptoma.⁹

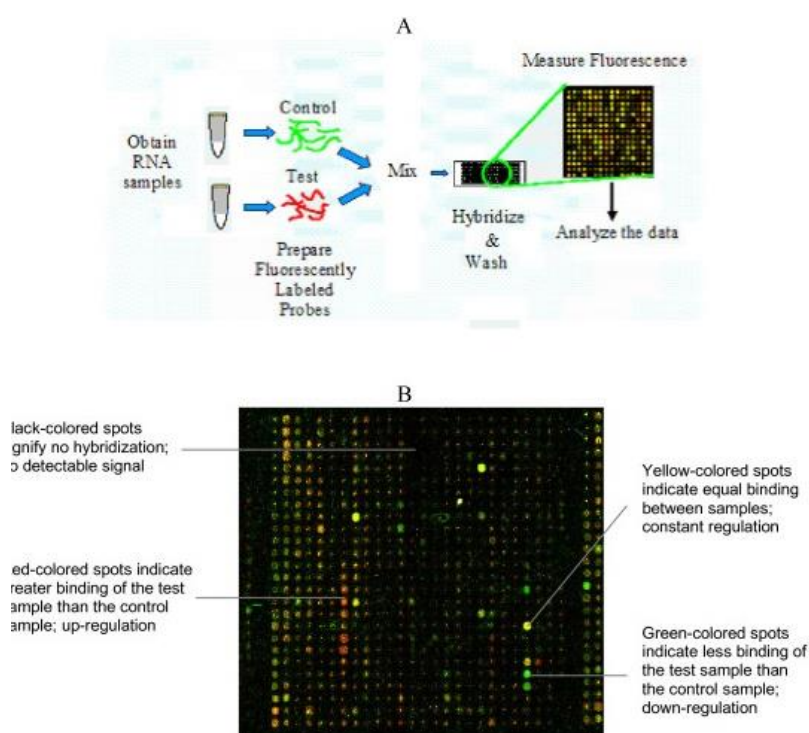
Não é possível pesquisar um grande número de genes usando métodos tradicionais, somente os microarranjos permitem o diagnóstico e tratamento personalizados para patologias que antes eram considerados não rastreáveis em sua expressão gênica inicial. Como muitas doenças importantes podem ser rastreadas até o nível do gene, um problema da pesquisa de longa data é identificar padrões específicos de expressão gênica vinculados a características metabólicas que contribuem para o desenvolvimento e progressão da doença. A abordagem do microarranjo oferece uma solução rápida para esse problema.¹

Um esquema simples de todo o processo para um experimento com microarranjo de cDNA, exemplificado na Figura 1A.³⁹ Resumidamente, o RNA total, uma vez isolado de uma amostra é verificado quanto a sua pureza e transcrito reversamente para produzir a sonda de cDNA, sendo então marcado com fluoróforo específico e, em seguida, impresso na matriz, possibilitando a hibridização com os mRNA alvos.³⁹⁻¹² A hibridização é quantificada após a lavagem, através da estimulação por lasers de comprimentos de onda apropriados para gerar 2 imagens “digitalizadas”, uma correspondente as amostras testes e a outra a amostra controle. As imagens são analisadas para quantificar o sinal dentro de cada ponto e uma pequena borda de fundo em torno de cada ponto. A principal medida é a proporção de expressão de cada ponto.²⁻³² Comparando as intensidades de fluorescência, genes que são diferencialmente expressos entre as amostras podem ser identificados, juntamente com a quantidade dessa diferença (ou seja, super-expressão ou sub-expressão da quantidade de mRNA hibridizados em relação aos controles).²⁹⁻²⁷ Por exemplo, a Figura 1B ilustra o significado de cada cor quando as amostras de testes são rotuladas com o corante Cy5 e a amostra de controle é rotulada com corante Cy3. Observe a Figura 1B, preto não representa nenhuma hibridização (ou seja, nenhuma ligação), verde indica a maior hibridização da amostra de controle em relação as amostras de ensaios, que nesse caso apresenta uma sub-expressão gênica para os genes alvos. Amarelo indica hibridização igual

entre a amostra controle e as amostras de ensaios. Vermelho indica maior hibridização das amostras de ensaios do que da amostra de controle, referida como super-expressão gênica para os genes alvos.²⁷⁻³⁶ Muitas amostras de cDNA são usadas para construir uma matriz, a quantidade de mRNA ligado a cada local da matriz indica o nível de expressão dos vários genes. Este número pode chegar a milhares. Todos os dados são coletados e um perfil é gerado para a expressão do gene na célula *in vivo* ou *in vitro* frente ao estímulo e ou patologia investigada.

Softwares de Bioinformática são usados para comparar cada uma das várias amostras a um único RNA de referência (controle) Figura 1A, que é comum a todos os experimentos. Os dados são expressos em uma matriz cujas colunas correspondem as diferentes amostras e linhas aos genes pesquisados; cada coluna representa um experimento distinto, sendo que cada ponto possui tanto o cDNA da amostra controle quanto o cDNA da amostra teste, sua análise é automatizada por softwares que aplicam estatísticas multivariadas e rede neural artificial.²⁻³²

1.1.2 **Figura 1** – Esquema das principais etapas em um experimento de microarranjo de cDNA.³⁹



(A) RNA é isolado e reverso transcrito em cDNA marcados com fluoróforo diferentes para amostras testes e controle, sendo então misturados, hibridizados e lavados. **(B)** ilustra o significado de cada cor quando as amostras de testes são rotuladas com o corante Cy5 e a amostra de controle é rotulada com corante Cy3. Depois que a lâmina é lavada, ela é digitalizada em dois comprimentos de onda diferentes, cada um correspondendo a um dos corantes. Fontes.²⁻³²

No entanto, foi um desafio reconhecer padrões de expressão de genes relacionados a doenças e incorporar os dados gerados pelos microarranjos.

Por que ao selecionar um pequeno conjunto de genes biologicamente significativo para design de classificador, a natureza da alta dimensionalidade de dados inerente a este problema cria uma quantidade substancial de incerteza.⁴

Incerteza que é minimizada por softwares de Bioinformática capazes de realizar validações cruzadas em milhares de ensaios que seguiram os mesmos protocolos e objetivos de mapeamento da expressão gênica das mais diversas patologias, como por exemplo o Alzheimer, Câncer, Diabetes.⁴

As próprias fabricantes dos microarranjos através da análise de componentes ou escalonamento multidimensional dos dados compartilhados por seus consumidores, em plataformas online, recalibram seus equipamentos para aumentar sua especificidade e sensibilidade para fins específicos.²⁻³²⁻⁴

Experimentos validam a comparabilidade, ou mesmo superioridade dos microarranjos em termos de reprodutibilidade em relação as outras técnicas de sequenciamento de RNA.¹² De fato, campos tão variados como toxicologia, biologia evolutiva, desenvolvimento e produção de drogas, caracterização de doenças, fisiologia celular e perícia forense têm se beneficiado de seu uso.²⁵

Assim sendo, o artigo oferece uma metapesquisa da importância dos microarranjos existentes e discute os principais aspectos relacionados as soluções inéditas que revolucionaram a análise da expressão gênica, o rastreamento de mutações, as análises genômicas comparativas do câncer, e mesmo no diagnóstico de doenças e na escolha personalizada de drogas para o tratamento das mesmas.

Ao constatar problemas clínicos com soluções paliativas na melhoria da qualidade de vida, muitos autores são levados a explorar os microarranjos, embasado nesses estudos essa metapesquisa procura resgatar os pontos-chaves da tecnologia que trazem esperança na comunidade científica. Apresentando brevemente o potencial de portabilidade de chips genéticos que estão sendo incorporados ao cotidiano e até mesmo aos nossos corpos, como soluções para problemas toxicológicos ambientais ou mesmo imunológicos, autoimunes. Ajudando a humanidade a conhecer-se melhor ainda para poder usufruir de um futuro livre de pandemias e dos milhares de problemas clínicos que afetam não só

nossa espécie mais todo um ecossistema.

2. OBJETIVO

Inicialmente, conceituar os primeiros obstáculos para o sucesso da implementação clínica dos microarranjos de DNA, como foram resolvidos proporcionando a experiência para solucionar os mesmos problemas, mas em novas plataformas de microarranjo, apresentando as classificações das mesmas.

Exemplificar aplicações na problemática clínica descrita na última década, com mais atenção aos microarranjos com capacidade de aplicações portatéis para monitoramento e ou eficácia em solucionar problemas clínicos complexos que proporcionam meios de tratamento personalizado para as mais diversas patologias adquiridas ou hereditárias. E por final apresentar reflexões das perspectivas dos artigos a respeito da significância e futuras direções da tecnologia, enfatizando experiências práticas e teóricas mais compartilhadas entre os autores.

3. METODOLOGIA DA METAPESQUISA

A principal estratégia para essa metapesquisa foi buscar na bibliografia dos artigos mais citados, pelas referências em comum sobre o assunto, obtendo melhor compreensão sobre diferentes perspectivas nas soluções clínicas.

Assim como o prefixo meta é utilizado para metacognição, metalinguística e metateoria, metapesquisa pode ser conceituada como pesquisa sobre pesquisas ou, ainda, pesquisa que busca explicar o processo de pesquisa sobre um tema ou de uma área ou campo específico.³⁵ Na literatura da língua inglesa, a maior parte dos autores utiliza os termos meta-research (metapesquisa) e meta-study (metaestudo) como sinônimos, mas há autores que distinguem meta-research de meta-study, argumentando que a meta-research tem um foco mais específico (afunilado), enquanto o meta-study é mais amplo e contempla uma variedade de aspectos a serem identificados e analisados nos textos. Na Língua Portuguesa, metapesquisa e metaestudo são empregados, na maioria das vezes, com um mesmo significado. Pesquisadores da área das Ciências Biológicas e da Saúde têm definido metapesquisa (meta-research) como:

Uma disciplina científica em evolução, que tem por objetivo avaliar e

melhorar a eficiência das práticas de pesquisa para gerar resultados de pesquisa mais confiáveis e úteis. Inclui a análise de métodos, formas de apresentar dados, reprodutibilidade, avaliação e incentivos (como fazer, relatar, verificar, corrigir e recompensar a ciência). Utiliza-se de abordagens interdisciplinares para estudar, promover e defender uma ciência mais robusta e comprometida com o progresso humano.¹⁸⁻²³⁻²²

O embasamento teórico foi obtido através da pesquisa pelas palavras chaves nos sites de publicação científicas, JAMA Network, SciELO, Microbial Cell Factories Biomed Central, Springer, Nature, Journal of Visualized Experiments (JOVE), Research Gate, Science Daily, RNA-Seq Transcriptome Sequencing Research, Sciomics, BioEndoCar, PLOS Computacional Biology, PubMed.

Também foram tirada dúvidas por email sobre a viabilidade prática do método de microarranjo, com a instituição DLE - Genética Humana e Doenças Raras, que existe a mais de 3 décadas e utiliza análise cromossômica por microarranjos em varios dos seus testes clínicos aplicados no diagnóstico e prognóstico de anomalias congênitas, autismo, atrasos de desenvolvimento, convulsões entre milhares de outras patologias hereditárias e ou adquiridas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Obstáculos Iniciais e Soluções

Após o entusiasmo inicial do surgimento dos microarranjos, suas armadilhas e limitações apareceram de muitas maneiras.

Inicialmente a baixa especificidade e reprodutibilidade eram frequentes, devido a variáveis experimentais que afetam a qualidade de cada passo da realização dos protocolos, isso inclui variações nos laboratórios, indivíduos, rotulagem de sondas, reações bioquímicas, scanners e lasers, grande parte desses problemas de reprodutibilidade foram solucionados pela automatização integrada. Para resolver o problema da baixa especificidade, a validação cruzada por outros métodos para medir a expressão gênica se tornou o "padrão ouro".³⁷⁻³¹

Porém o preço para realizar a validação cruzada de todos os genes descobertos pelo perfil de expressão do microarranjo é inviável, somente uma parte deles para fins de controle. Isso até surgirem os modelos matemáticos sobre o comportamento da heterogeneidade de ruído nos conjuntos de dados dos microarranjos e algoritmos que descobriram estados altamente específicos da

expressão genética denominados de super-expressão (up-regulation) ou sub-expressão (down-regulation) a partir de perfis de expressão em todo genoma.¹⁷⁻¹⁵

A heterogeneidade de ruído implica que a distribuição de ruído varia entre os conjuntos de dados, dependendo da qualidade. Esses princípios podem ser resumidos da seguinte forma, cada comparação entre amostra e referência gera dezenas de milhares de taxas de expressão. O modelo é baseado na ideia de que menos de 5% de todos os genes genômicos são diferencialmente expressos entre a amostra e a referência (verdadeiros positivos).

Os níveis de expressão dos outros mais de 95% não devem ser diferentes (verdadeiros negativos). Razões verdadeiro-positivo (<5%) e falso-positivo (> 95%) compartilham as mesmas distribuições, sendo assim variações nos níveis de expressão gênica entre amostras são na maior parte do tempo causados por ruídos e não somente pela heterogeneidade Biológica investigada.

As ferramentas matemáticas geram descobertas altamente específicas por modelagem e filtragem de ruído, o uso de modelagem matemática e filtros é comum; para citar alguns exemplos, os engenheiros aplicam filtros para resolver problemas de ruído em telefones celulares, música digital e televisão digital.¹⁷⁻¹⁵⁻¹⁶

4.2 Diferentes Critérios de Classificação dos Microarranjos

Microarranjos, podem ser classificados abertamente de acordo com três critérios, o primeiro é o comprimento de onda das sondas; os microarranjos de cDNA por exemplo, usam sondas de centenas ou milhares de bases de pares (bps), enquanto os microarranjos das matrizes de oligonucleotídeos, usam sondas curtas (geralmente 50 bps ou menos).

O segundo critério é o método de fabricação; que incluem “deposição” de sequências previamente sintetizadas, ou síntese in situ, normalmente, as matrizes de cDNA são fabricadas usando deposição, enquanto as matrizes de oligonucleotídeos são fabricadas usando tecnologias in situ.⁶

As tecnologias in situ incluem: “Fotolitografia” (por exemplo, Affymetrix, Santa Clara, CA), “impressão a jato de tinta” (por exemplo, Agilent, Palo Alto, CA) e “síntese eletroquímica” (por exemplo, Combimatrix, Mukilteo, WA).

O terceiro critério é o número de amostras que podem ser perfiladas simultaneamente em uma matriz; as “matrizes de canal único” analisam uma única amostra por vez, enquanto as “matrizes de vários canais” podem analisar duas ou mais amostras simultaneamente. Um exemplo de uma matriz de oligonucleotídeo, de canal único é o Affymetrix GeneChip.³⁸

O que define qual será a melhor escolha entre microarranjos de oligonucleotídeos ou microarranjos de cDNA são os alvos específicos das sondas, e se estão inclusos na plataforma com o número desejado de réplicas disponíveis.

Uma simples pesquisa online revelará uma infinidade de empresas que fabricam microarranjos e permitem que os clientes construam seus próprios arranjos personalizados usando software especializado, as mesmas empresas que também oferecem informações sobre várias fontes de erro, sistemáticas ou não, e protocolos de controle adequado, que precisam ser implementados para solucionar variantes internas e externas de interferência.⁷⁻⁸⁻¹³

4.3 Aplicações Clínicas: Integração Transcriptoma & Epigenoma.

O estudo do perfil de expressão gênica gerado pelo transcriptoma de células e tecidos tornou-se uma importante ferramenta de descrição de mudanças de expressão em todo o genoma na saúde e na doença, os resultados dos experimentos mudaram os métodos empregados no diagnóstico e prognóstico de doenças hereditárias e ou adquiridas.¹⁻³⁸⁻¹⁹ A expressão do gene é regulada por várias proteínas e processos biológicos complexos. Por isso o transcriptoma foi integrado ao campo da epigenômica, que é o estudo de todas as modificações epigenéticas no DNA ou histonas de uma célula, essas modificações epigenéticas reguladoras da expressão gênica governam uma ampla gama de processos biológicos.⁵

Os pesquisadores identificaram perfis de modificação epigenéticas do genoma usando métodos de microarranjo e sequenciamento, por exemplo, o Projeto Epigenoma Humano (HEP) visa identificar padrões de metilação de DNA em todo o genoma e nos principais tecidos. Integrado ao Transcriptoma deu origem ao projeto EPITRANS, que faz a análise de dados gerados através do método da hibridização genômica comparativa, para revelar modificações epigenéticas e de expressões gênicas relacionadas à função celular, identificando exatamente quais genes estão

"ativados" nos tecidos acometidos por diversas patologias em comparação aos tecidos saudáveis. Em específico, o papel da integração do transcriptoma mapeado por microarranjos nessa área, é revelar as super-expressões ou sub-expressões gênica relativas a perfis de quantidade (quantitativos) e não só de existência (qualitativos) dos genes alvos de diagnósticos e prognósticos clínicos. A integração dessa enorme quantidade de dados promete revolucionar nossa compreensão das interações gene-ambiente e oferecer novas maneiras de diagnosticar e tratar doenças complexas.¹⁴⁻⁸ A aplicação na problemática clínica mais citada na última década dos microarranjos de cDNA é a "biópsia líquida" uma ferramenta que permite a caracterização genética de vários tipos de tumor e a quantificação do DNA tumoral circulante (ctDNA). Realizada simultaneamente e instantaneamente com apenas microlitros (μ l) de amostra para serem testadas. A Biópsia Líquida provê um diagnóstico precoce, revelando também (pré-disposições) e monitorando a progressão tumoral. Por vezes capazes ainda de traçar o perfil farmacogenético do tumor, através da detecção dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNP).

Graças à biópsia líquida é possível ter, em todos os momentos e de forma até mesmo não invasiva (amostra de saliva), a tipagem genética do tumor, a biópsia líquida é utilizada em centros de excelência em Oncologia), para verificar a adequação do tratamento em caso de câncer de pulmão, cólon, pâncreas, tumores gastrointestinais, leucemias, câncer de mama, ovário e cerebrais.²⁴

A tecnologia de microarranjo ajudará os pesquisadores a aprender mais sobre muitas doenças diferentes, incluindo doenças cardíacas, doenças mentais e doenças infecciosas, para citar apenas alguns. No passado, os cientistas classificaram diferentes tipos de câncer com base nos órgãos nos quais os tumores se desenvolvem. Com a ajuda da tecnologia de microarranjo, no entanto, são capazes de classificar mais profundamente esses tipos de câncer com base nos padrões de atividade do gene nas células tumorais, projetando estratégias de tratamento direcionadas a cada tipo específico de câncer.⁹⁻³¹⁻³³

4.4 Aplicações Clínicas: Farmacogenômica & Toxicologia

A farmacogenômica estuda as diferenças genéticas que influenciam a variabilidade das respostas aos medicamentos. Variações genéticas que são comuns (ocorrem em ao menos 1% da população) e são conhecidos como simplesmente

polimorfismo ou polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) sendo o último mais comum. Mais de 1/3 dos genes humanos é polimórfico.

O melhor método para farmacogenômica são os microarranjos, por permitirem a pesquisa de m-RNA da expressão genica, revelando a cascata de sinais que as drogas estão provocando em tempo real podendo ainda comparar com outros indivíduos. Embora seja o melhor método tem suas desvantagens, as amostras tem que ser coletadas durante intervalos de tempo limitados da farmacoterapia, não podem ser enviadas e ou armazenadas, não podendo utilizar o swab como no PCR ou sequenciamento, preferencialmente a amostra deve ser da biópsia das células alvo da droga ou da corrente sanguínea. É importante lembrar que apenas 1 a 2% do genoma humano é traduzido em proteínas, enquanto cerca de três quartos é transcrito em RNA, os tornando os antecessores de muitas cascatas de sinais químicos.

A química medicinal tem empregado cada vez mais microarranjos para identificar os principais genes-alvo e redes de genes que podem regular a eficácia dos medicamentos. Uma aplicação importante da tecnologia de microarranjo de DNA, é o seu uso como uma ferramenta de triagem para a identificação de vias bioquímicas, que representam alvos potenciais para novas moléculas terapêuticas, principalmente na identificação de mecanismos moleculares de toxicidade de forma a compreender e prever a sensibilidade e resistência individual aos medicamentos.²⁴ Uma aplicação importante da tecnologia de microarranjo, no contexto de estudos neurotoxicológicos, é seu uso como uma ferramenta de triagem para a identificação de mecanismos moleculares de toxicidade, essas abordagens permitem que os pesquisadores identifiquem aqueles genes e seus produtos (vias simples ou inteiras) que estão envolvidos em conferir resistência ou sensibilidade a substâncias tóxicas.⁹⁻¹¹

4.5 Aplicações Clínicas: Imunologia

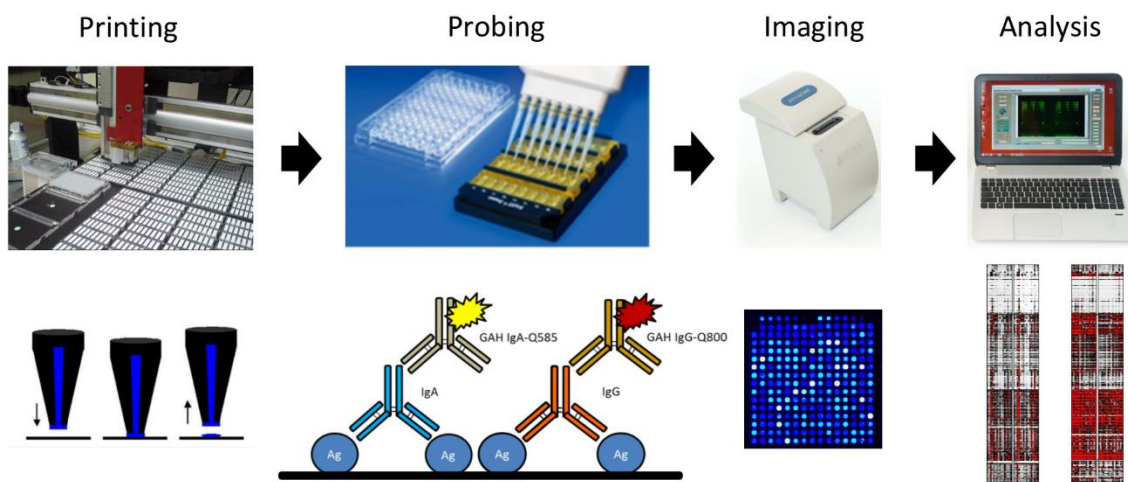
A tecnologia de microarranjo de DNA é aplicada em pesquisas imunológicas, de desenvolvimento, de maturação, de ativação e diferenciação de células tronco do sistema imunológico, em pesquisas de regulação das respostas imunes, pesquisas do mecanismo molecular das alergias (doenças-autoimunes), revelando a relação entre fenótipo e expressão gênica, e expandindo os alvos da farmacologia imunológica. Os microarranjos aprofundaram nossa percepção do sistema imunológico, revelando até mesmo o mecanismo desconhecido de fitoterápicos

milenarios usados principalmente na medicina chinesa contra alergias.²⁸⁻¹⁹⁻⁹ Uma das áreas clínicas mais promissoras inclui classificação; particularmente no contexto de doenças imunológicas e / ou patógenos.¹⁰⁻²⁰

Por exemplo, ainda em 2002 pesquisadores usaram microarranjos para confirmar classificações anteriores dos grupos de genes representativos de cada um dos fenótipos patogênicos, não patogênicos, pouco patogênicos e altamente patogênicos do total de 94 cepas diferentes de *Yersinia enterocolitica*, ou seja, classificando em grupos de níveis de patogenicidade com implicações funcionais.²¹

A aplicação mais promissora na problemática clínica imunológica da última década, são os microarranjos de antígenos de coronavírus (CoVAM), que podem detectar simultaneamente anticorpos IgG, IgA e IgM contra 67 antígenos, com resultados replicados 4 vezes para o novo SARS-CoV-2, causador da pandemia, outros Coronavírus sazonais endêmicos e vírus respiratórios, com capacidade atual para >1000 testes por mês. Como a Figura 2 ilustra.²⁶

4.5.5 **Figura 2** - Esquema de impressão dos microarranjos de antígeno de influenza e sondagem.²⁶



Da esquerda para a direita, o microarranjo é impresso em lâminas revestidas com nitrocelulose, que são usadas para sondar soros para anticorpos IgG e IgA usando anticorpos secundários conjugados com fluoróforo, o gerador de imagens portátil lê os resultados para gerar um mapa de calor e enviar os dados para análise.²⁶

Um desafio chave para o desenvolvimento de vacinas universais contra os vírus influenza é a alta diversidade antigênica resultante da tendência que determinado vírus manifesta em alterar periodicamente a sua estrutura genética através de um antígeno mutante, o que exige novos anticorpos e vacinas para o combater, denominada de deriva antigênica. Superar esse desafio requer microarranjos de antígenos para medir a amplitude dos anticorpos séricos

direcionados contra muitas cepas de vírus com diferentes subtipos antigênicos.²⁶

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Existem, é claro, outras limitações inerentemente presentes que restringem o escopo da análise de microarranjos como qualquer outra ferramenta, por exemplo, microarranjos apresentam apenas uma foto instantânea (um momento temporal) do transcriptoma, que muda continuamente e responde às necessidades e sinais celulares. Como tal, microarranjos iluminam apenas uma parte do que está acontecendo dentro de uma célula ou uma população de células.²⁷⁻⁴¹

Além disso, não precisa haver necessariamente uma correlação estreita entre a expressão de um gene e a quantidade de proteína traduzida. Portanto, genes expressos diferencialmente podem não se traduzir em níveis variáveis de proteínas com implicações funcionais.²⁷ Além disso, a complexidade da análise de microarranjo torna extremamente difícil determinar dados significativos com significado biológico real sem objetivos ou alvos claramente definidos. Um aspecto intrincado da análise genômica é a interação entre genes ou grupos de genes (ou seja, mecanismos) e essa informação não é facilmente decifrada usando microarranjos. E, finalmente, a funcionalidade de um gene não pode ser determinada apenas usando microarranjos.²⁷⁻²⁹ Na verdade, outros métodos e ferramentas experimentais são necessários para decifrar o proteoma, compreender as diferentes interações entre genes e / ou proteínas e desenvolver uma imagem mais completa do comportamento celular. Em última análise, os microarranjos continuarão a ser usados em uma variedade de áreas de pesquisa à medida que mais opções no projeto de matrizes customizadas se tornem disponíveis, juntamente com um aumento na variedade de matrizes específicas de espécies. Os avanços tecnológicos podem ajudar a reduzir os custos, bem como aumentar a reprodutibilidade e a confiabilidade, promovendo a aplicação de microarranjos em campos novos e diversos. No final, as questões levantadas pelos resultados do microarranjo são frequentemente tão vitais quanto as respostas que eles produzem; uma chave para expandir o papel de qualquer método científico para abranger novos campos. É mais importante conhecer a pessoa que tem a doença, do que a doença que a pessoa tem.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGUAN K, CARVAJAL JA, THOMPSON LP, WEINER CP. 2000. **Application of a functional genomics approach to identify differentially expressed genes in human myometrium during pregnancy and labour.** *Molecular human reproduction J* 6:1141–5.
2. ALIZADEH, AAEISEN, MBDAVIS E et al. **Distinct types of diffuse late B-cell lymphomas identified by gene expression profiling.** *Nature* 2000;403503- 511.
3. BERCHUCK A, IVERSEN ES, LANCASTER JM, DRESSMAN HK, WEST M, NEVINS JR, MARKS JR. 2004. **Prediction of optimal versus suboptimal cytoreduction of advanced-stage serous ovarian cancer with the use of microarrays.** *American journal of obstetrics and gynecology J* 190:910–25.
4. **Biomedcentral BMC Part of Springer Nature.** 1333 result(s) for ‘Bioinformatics microarray cross-validations’.
[\[https://www.biomedcentral.com/search?query=Bioinformatics+microarray+cross-validations&searchType=publisherSearch\]](https://www.biomedcentral.com/search?query=Bioinformatics+microarray+cross-validations&searchType=publisherSearch) acessado em 20 de nov. de 2020.
5. BIRD A. **Perceptions of epigenetics.** *Nature.*2007;447:396–398.
6. BLANCHARD AP, KAISER RJ, HOOD LE. 1996. **High-density oligonucleotide arrays.** *Biosensors and Bioelectronics J* 11:687–690.
7. BROWN PO, BOTSTEIN D: **Exploring the new world of the genome with DNA microarrays.** *Nat Genet.* 1999, 21 (1 Suppl): 33-37. 10.1038/4462.
8. BROWN PO, BOTSTEIN D: **Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns.** *Nat Genet.* 1998: 14864-14866. 10.1038/4462.
9. BUMGARNER R. **DNA microarrays: Types, Applications and their future.** *Current Protocols in Molecular Biology* 2013 J 22-1.
10. CALL DR, BORUCKI M, BESSER TE: **Mixed-genome microarrays reveal multiple serotype and lineage-specific differences among strains of *Listeria monocytogenes*.** *J Clin Microbiol.* 2003, 41: 632-639.

- 10.1128/JCM.41.2.632-639.2003.
11. CLAMP, MICHELE et al "**Distinguishing protein-coding and noncoding genes in the human genome.**" *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104.49 (2007): 19428-19433. Web. 21 Nov. 2020.
 12. CONWAY T, SCHOOLNIK GK: **Microarray expression profiling: capturing a genome-wide portrait of the transcriptome.** *Mol Microbiol* 2003, 47:879-889.
 13. DOPAZO J, ZANDERS E, DRAGONI I, AMPHLETT G, FALCIANI F: **Methods and approaches in the analysis of gene expression data.** *J Immunol Methods.* 2001, 250: 93-112. 10.1016/S0022-1759(01)00307-6.
 14. Eckhardt F, Lewin J, Cortese R, Rakyan VK, Attwood J, Burger M, Burton J, Cox TV, Davies R, Down TA, et al. **DNA methylation profiling of human chromosomes 6, 20 and 22.** *Nat Genet.* 2006;38:1378–1385.
 15. FATHALLAH-SHAYKH HHE BZHAO L-JBADRUDDIN A. **A mathematical algorithm for discovering states of expression from direct genetic comparison by microarrays.** *Nucleic Acids Res* 2004;32:3807- 3814.
 16. FATHALLAH-SHAYKH HMHE BZHAO L-J et al. **Genomic expression discovery predicts pathways and opposing functions behind phenotypes.** *J Biol Chem* 2003;278:23830- 23833.
 17. FATHALLAH-SHAYKH HRIGEN MZHAO L-J et al. **Mathematical modeling of noise and discovery of genetic expression classes in gliomas.** *Oncogene* 2002;21:7164- 7174.
 18. FINFGELD, D. L. **Metasynthesis: the state of the art - so far.** *Qualitative Health Research*, v. 13, n. 7, p. 893-904, 2003.
 19. FU LM, FU-LIU CS. 2005. **Evaluation of gene importance in microarray data based upon probability of selection.** *BMC Bioinformatics* 6(1):1.
 20. HANSON EH, NIEMEYER DM, FOLIO L, AGAN BK, ROWLEY RK: **Potential use of microarray technology for rapid identification of central nervous system pathogens.** *Mil Med.* 2004, 169: 594-599.
 21. HOWARD SL, GAUNT MW, HINDS J, WITNEY AA, STABLER R, WREN BW: **Application of comparative phylogenomics to study the evolution of *Yersinia enterocolitica* and to identify genetic differences relating to pathogenicity.** *J Bacteriol.* 2006, 188: 3645-3653. 10.1128/JB.188.10.3645-3653.2006.

22. IOANNIDIS, J. P. A. et al. **Meta-research: evaluation and improvement of research methods and practices.** PLoS Biology, v. 13, n. 10, 2015.
23. IOANNIDIS, J. P. A. **Meta-research: why research on research matters.** PLoS Biology, v. 16, n. 3, 2018.
24. IZZOTTI A, CAROZZO S, PULLIERO A, ZHABAYEVA D, RAVETTI JL, BERSIMBAEV R. **Extracellular MicroRNA in liquid biopsy: applicability in cancer diagnosis and prevention.** Am J Cancer Res. 2016;6(7):1461-1493.
25. JALURIA, P., KONSTANTOPOULOS, K., BETENBAUGH, M. et al. **A perspective on microarrays: current applications, pitfalls, and potential uses.** Microb Cell Fact 6, 4 (2007).
26. KHAN, S., JAIN, A., TAGHAVIAN, O., NAKAJIMA, R., JASINSKAS, A., SUPNET, M., FELGNER, J., DAVIES, J., de ASSIS, R. R., JAN, S., OBIERO, J., STRAHSBURGER, E., PONE, E. J., LIANG, L., DAVIES, D. H., FELGNER, P. L. **Use of an Influenza Antigen Microarray to Measure the Breadth of Serum Antibodies Across Virus Subtypes.** *J. Vis. Exp.* (149), e59973, doi:10.3791/59973 (2019).
27. LI X, GU W, MOHAN S, BAYLINK DJ: **DNA microarrays: their use and misuse.** *Microcirculation* 2002, 9:13-22.
28. MA YY, ZHANG XM. 2004. **Application of DNA microarray technology in immunological research and its inspiration to researches on traditional Chinese medicine.** *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao= Chinese integrative medicine J* 2(2):90-3.
29. NAKANISHI T, OKA T, AKAGI T: **Recent Advances in DNA microarrays.** *Acta Med Okayama* 2001, 55:319-328.
30. NAZAROV, P.V., MULLER, A., KAOMA, T. et al. **RNA sequencing and transcriptome arrays analyses show opposing results for alternative splicing in patient derived samples.** *BMC Genomics* 18, 443 (2017).
31. NIELSEN TOHSU FDO'CONNELL JX et al. **Tissue microarray validation of epidermal growth factor receptor and SALL2 in synovial sarcoma with comparison to tumors of similar histology.** *Am J Pathol* 2003;163:1449- 1456.
32. NISHIZUKA SCHEN STGWADRY FG et al. **Diagnostic markers that distinguish colon and ovarian adenocarcinomas: identification by genomic, proteomic, and tissue array profiling.** *Cancer*

- Res 2003;635243- 5250.
33. RAYS M, CHEN Y, SU YA. 1996. **Use of a cDNA microarray to analyse gene expression patterns in human cancer.** *Nature genetics* J 14:457–460.
 34. ROMAN, I. 2008. **DNA microarrays--perspective of application for drug effectivity and safety evaluation.** *Postepy biochemii* J 54(1):107-115.
 35. ROSENBAUM, A.; LANGHINRICHSEN-ROHLING, J. **Meta-research on violence and victims: the impact of data collection methods on findings and participants.** *Violence and Victims*, v. 21, n. 4, p. 404-409, 2006.
 36. SLONIM DK: FROM PATTERNS TO PATHWAYS: **gene expression data analysis comes of age.** *Nat Genet* 2002:502-508.
 37. TAN PK DOWNEY TJ SPITZNAGEL EL JR et al. **Evaluation of gene expression measurements from commercial microarray platforms.** *Nucleic Acids Res* 2003;31:5676- 5684 .
 38. TARCA AL, ROBERTO R, AND SORIN D. 2006. **Analysis of microarray experiments of gene expression profiling.** *Am J Obstet Gynecol* J 195(2): 373–388.
 39. **The Institute for Genomic Research.** Disponível em [<http://www.tigr.org/>] Acessado em 20 de nov. 2020.
 40. VAN DER KLOET FM, BUURMANS J, JONKER MJ, SMILDE AK, WESTERHUIS JA (2020) **Increased comparability between RNA-Seq and microarray data by utilization of gene sets.** *PLoS Comput Biol* 16(9): e1008295.
 41. XIANG Z, YANG Y, MA X, DING W: **Microarray expression profiling: analysis and applications.** *Curr Opin Drug Discov Devel.* 2003, 6: 384-395.

7. ABREVIACÕES

cDNA: DNA complementar.

CoVAM: Microarranjos de Antígenos de Coronavírus.

PCR: Reação em Cadeia da Polimerase.

SARS-CoV-2: Síndrome Respiratória Aguda Grave do Coronavírus 2

HEP: Projeto Epigenoma Humano.

mRNA: RNA mensageiro.

SNPs: Polimorfismo de Nucleotídeo Único.

EPITRANS: Banco de dados que integra dados do epigenoma e do transcriptoma.

ctDNA: DNA Tumoral Circulante.