



ISSN: 2595-1661

ARTIGO

Listas de conteúdos disponíveis em [Portal de Periódicos CAPES](#)

## Revista JRG de Estudos Acadêmicos

Página da revista:

<https://revistajrg.com/index.php/jrg>

ISSN: 2595-1661

Revista JRG de  
Estudos Acadêmicos

### Repressão global do Transcriptoma mitocondrial na doença de Huntington: uma análise *in Silico* RNA-SEQ

Global Repression of Mitochondrial Transcriptome in Huntington's Disease: An In Silico RNA-Seq Analysis

DOI: 10.55892/jrg.v9i20.3409

ARK: 57118/JRG.v9i20.3409

Recebido: 21/05/2026 | Aceito: 25/05/2026 | Publicado *on-line*: 26/05/2026

#### Joyce Marcelino Vieira<sup>1</sup>

<https://orcid.org/0009-0004-2182-927X>

<http://lattes.cnpq.br/5191701137752300>

Centro Universitário - CESMAC, AL, Brasil

E-mail: joycemarcelino19@gmail.com

#### João Pacífico Bezerra Neto<sup>2</sup>

<https://orcid.org/0000-0003-3861-4879>

<http://lattes.cnpq.br/7394341362881575>

Universidade Estadual de Pernambuco, PE, Brasil

E-mail: pacifico.joao@upe.br

#### Carlos André dos Santos Silva<sup>3</sup>

<https://orcid.org/0000-0003-0020-9763>

<http://lattes.cnpq.br/3295949147368703>

Centro Universitário - CESMAC, AL, Brasil

E-mail: carlos.ssilva@cesmac.edu.br

#### Laércio Pol Fachin<sup>4</sup>

<https://orcid.org/0000-0002-4621-3031>

<http://lattes.cnpq.br/8104409659314529>

Centro Universitário - CESMAC, AL, Brasil

E-mail: laercio.fachin@cesmac.edu.br



### Resumo

A doença de Huntington (DH) é uma doença neurodegenerativa caracterizada por declínio motor e cognitivo progressivo, na qual a insuficiência metabólica e a disfunção mitocondrial desempenham um papel central na sua patogênese. Este estudo teve como objetivo identificar padrões transcricionais aberrantes em genes associados ao metabolismo energético e a função mitocondrial em pacientes em HD usando uma abordagem *in silico*. Dados diferenciais de expressão gênica foram obtidos de repositórios públicos e analisados com foco em vias metabólicas e enriquecimento funcional. Os resultados revelaram uma regulação negativa significativa dos principais genes mitocondriais, particularmente aqueles envolvidos na fosforilação oxidativa e na síntese de ATP, incluindo MT-ND4 e MT-ATP6. A Análise de Enriquecimento de Conjunto de Genes (GSEA) demonstrou uma perturbação nas vias do metabolismo energético no núcleo caudado cerebral. Esses achados sugerem que a desregulação transcricional dos

<sup>1</sup> Graduando(a) em Biomedicina pelo Centro Universitário Cesmac.

<sup>2</sup> Graduado(a) em Ciências Biológicas; Mestre Genética; Doutor Ciências Biológicas

<sup>3</sup> Graduado(a) em Biomedicina; Mestre em Engenharia Biomédica; Doutor em Genética

<sup>4</sup> Graduado(a) em Biomedicina. Mestre em Biologia Celular e Molecular; Doutor em Biologia Celular e Molecular



componentes mitocondriais é uma característica associada à progressão da DH e pode representar um alvo potencial para intervenção terapêutica. Em conclusão, a presente análise *in silico* apoia a hipótese de que a falha metabólica sistêmica na DH é impulsionada por um padrão coordenado de repressão da atividade transcricional mitocondrial, fornecendo novas percepções sobre os mecanismos moleculares subjacentes à doença.

**Palavras-chave:** Doença de Huntington; Metabolismo Energético; Mitocôndrias; Perfil de Expressão Gênica; Transcrição; Genética.

### **Abstract**

*Huntington's disease (HD) is a neurodegenerative disorder characterized by progressive motor and cognitive decline, in which metabolic failure and mitochondrial dysfunction play a central role in its pathogenesis. This study aimed to identify aberrant transcriptional patterns in genes associated with energy metabolism and mitochondrial function in HD patients using an in silico approach. Differential gene expression data was obtained from public repositories and analyzed with a focus on metabolic pathways and functional enrichment. The results revealed significant downregulation of key mitochondrial genes, particularly those involved in oxidative phosphorylation and ATP synthesis, including MT-ND4 and MT-ATP6. Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) demonstrated a disruption of energy metabolism pathways across the cerebral caudate nucleus. These findings suggest that transcriptional dysregulation of mitochondrial components is a hallmark of HD progression and may represent a potential target for therapeutic intervention. In conclusion, the present in silico analysis supports the hypothesis that systemic metabolic failure in HD is driven by a coordinated collapse of mitochondrial transcriptional activity, providing new insights into the molecular mechanisms underlying the disease.*

**Keywords:** Huntington Disease; Energy Metabolism; Mitochondria; Gene Expression Profiling; Transcription; Genetic

## **1. Introdução**

A Doença de Huntington (DH) é uma enfermidade neurodegenerativa autossômica dominante, causada por um trecho expandido de repetições de poliglutamina (CAG) no gene HTT (Bates *et al.*, 2015). A DH manifesta-se por movimentos involuntários aleatórios, que não podem ser suprimidos, declínio progressivo das habilidades mentais e alterações comportamentais, emocionais e psiquiátricas, culminando em demência e, por fim, morte.

O gene HTT codifica a proteína huntingtina, expressa em todas as células animais e humanas, com níveis elevados no cérebro, sendo essencial para o transporte intracelular mediado por microtúbulos ao interagir com complexos motores proteicos. (Schulte; Littleton, 2011). A mutação resulta na expansão de um trecho de glutamina na região N-terminal da estrutura proteica, onde comprimentos de repetição CAG ( $\geq 36$ ) são consideradas patogênicas (huntingtina mutante), resultando na expressão de um composto proteico truncado e altamente tóxico. (HDCR, 1993; Sathasivam *et al.*, 2013).

Embora a DH afete múltiplos tipos celulares, sua neurobiologia é marcada pela morte neuronal seletiva e progressiva, com danos mais acentuados no núcleo caudado e no putâmen dos gânglios da base (Aylward *et al.*, 2000). Esse processo degenerativo decorre da tendência da huntingtina mutante em formar oligômeros tóxicos e agregados, cujas propriedades patogênicas comprometem a viabilidade das células neuronais do corpo estriado, incluindo as organelas mitocondriais (Buckley *et al.*, 2010).



Neste contexto, a patogênese da doença está intrinsecamente ligada à função do metabolismo energético e ao estresse oxidativo. Segundo Jurcau e Jurcau (2023), a huntingtina mutante desregula a dinâmica mitocondrial, prejudicando a biogênese, o tráfego axonal e o equilíbrio destas organelas. Além disso, de componentes vitais, como o Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF), essencial para a sobrevivência dos neurônios do corpo estriado. (Virlogeux *et al.*, 2021).

Esta falência metabólica cria um ambiente celular insustentável que compromete a sobrevivência dos neurônios no corpo estriado, atuando como um modulador crítico da progressão da doença (Yan *et al.*, 2020).

Diante da complexidade dos mecanismos moleculares envolvidos na Doença de Huntington, especialmente no que se refere à estabilidade genômica e aos processos de degeneração neuronal em áreas de alta demanda metabólica como o corpo estriado, esta pesquisa propõe uma análise aprofundada da disfunção de genes mitocondriais e metabólicos. Embora a literatura estabeleça que a DH afeta a função mitocondrial, ainda há uma lacuna científica quanto à integração de dados de bases distintas para mapear o colapso coordenado do genoma mitocondrial (mtDNA) em relação ao genoma nuclear.

A hipótese principal do estudo baseia-se na premissa de que a expansão CAG promove uma desregulação transcricional sistêmica, culminando em um limiar de exaustão metabólica. Nesse estágio, a repressão dos genes mitocondriais ocorreria de forma uniforme, independentemente da magnitude da mutação acima do limiar patológico.

Para fundamentar esta circunstância, será construído um banco de dados transcriptômico elaborado com dados públicos de pacientes com DH. Por meio desse banco, será realizada a investigação desses genes com o objetivo de identificar possíveis modificadores genéticos que influenciem a progressão da doença e ofereçam novos alvos terapêuticos ou marcadores moleculares relevantes para o entendimento da DH.

## 2. Metodologia

O propósito deste estudo consistiu em analisar a Disfunção Mitocondrial e Metabólica Associada à Doença de Huntington. Trata-se de uma pesquisa exploratória, por investigar padrões transcriptômicos pouco associados à Doença de Huntington a partir de dados públicos de RNA-Seq, buscando identificar vias biológicas e assinaturas moleculares exploradas no contexto da expansão CAG.

Simultaneamente, apresenta caráter explicativo, uma vez que busca compreender os mecanismos biológicos subjacentes à disfunção metabólica e mitocondrial observada, relacionados à expressão gênica com a presença e a magnitude da mutação genética característica da doença.

A abordagem analisada é quantitativa, baseada na análise estatística de dados de expressão gênica, testes de diferenciação de expressão, análises de enriquecimento funcional e exibição entre variações numéricas (níveis de expressão gênica e número de repetições CAG).

A pesquisa é fundamentada em dados secundários, provenientes de bases públicas de dados genômicos e transcriptômicos, como o Sequence Read Archive (SRA) e o Genotype-Tissue Expression Project (GTEx), além de literatura científica especializada.

### 2.1 Busca e Aquisição de Dados



Foram selecionadas 5 amostras humanas relacionadas à Doença de Huntington (DH) no SRA e 5 amostras de controle de tecido cerebral correspondente, garantindo a comparabilidade biológica entre os grupos específicos no GTEx.

A seleção dos conjuntos de dados de sequenciamento de RNA obtidos no SRA foi baseada em critérios específicos, incluindo a fonte de RNA, já que está sendo abordada a via transcriptômica, a estratégia de sequenciamento paired-end, que inclui dados em dupla fita, tornando-os mais robustos, e a plataforma utilizada Illumina, servindo como um dos principais repositórios para dados de sequenciamento de nova geração (NGS).

O artigo científico associado a cada conjunto de dados selecionados foi totalmente revisado para assegurar a adequação dos dados aos objetivos da pesquisa.

A seleção das amostras para o grupo experimental obedeceu a critérios rigorosos de elegibilidade para garantir a consistência biológica dos dados transcriptômicos. Foram incluídas cinco amostras de RNA-Seq do núcleo caudado provenientes do bioprojeto PRJNA1011409 (SRP458058), selecionadas com base na disponibilidade de metadados críticos: a presença confirmada da expansão de poliglutamina (CAG > 40) e o pareamento por faixa etária (40 a 60 anos), com o objetivo de reduzir o impacto do envelhecimento natural no perfil de expressão.

Na plataforma GTEx, foram obtidas contagens de leitura de RNA-seq referentes a amostras do núcleo caudado, estrutura pertencente aos gânglios da base e diretamente relacionada à fisiopatologia da DH. Importante destacar que, a utilização da plataforma como grupo controle justifica-se pela alta padronização dos protocolos de coleta e sequenciamento da ferramenta, oferecendo um perfil transcriptômico de referência robusto para tecidos do sistema nervoso central, o que potencializa a detecção de assinaturas patológicas nas amostras provenientes do SRA.

Os critérios de inclusão para o grupo controle basearam-se na extração de perfis transcriptômicos, utilizando especificamente a versão atualizada do dataset de contagens brutas que contém apenas dados de sequenciamento provenientes do núcleo caudado (gânglios da base), pareando-se rigorosamente ao tecido das amostras do grupo experimental (SRA). Foram selecionadas apenas amostras de doadores sem histórico de doenças neurológicas.

Como critérios de exclusão, foram desconsideradas amostras que apresentassem falhas técnicas críticas ou inconsistências biológicas que pudessem comprometer a integridade da análise transcriptômica.

## **2.2 Download e Pré-processamento dos Dados**

Os dados de RNA-Seq foram obtidos utilizando o SRA Toolkit na forma de arquivos brutos (FASTQ), em seguida foi verificado a integridade dos arquivos, e organização dos dados conforme os grupos experimentais para as subseqüentes análises.

## **2.3 Controle de Qualidade e Pré e Pós Processamento dos Dados**

A qualidade das seqüências foi avaliada a partir de gráficos gerados pelo software FastQC, para garantir a confiabilidade dos dados, foram aplicados critérios de sequenciamento, eliminação de seqüências duplicadas e descarte de leituras com comprimento reduzido. O processamento foi realizado utilizando o Trimmomatic (via terminal), visando otimizar a qualidade dos dados para o posterior alinhamento com o genoma de referência humano, incluindo um quality score mínimo ( $Q \geq 30$ ).

Após o processamento inicial, foi realizada uma análise de qualidade pós-processamento, por meio de tabelas e gráficos gerados novamente pelo FastQC com o



objetivo de verificar a consistência dos dados e confirmar a adequação das amostras para as análises de expressão gênica diferencial.

### **2.5 Alinhamento e Quantificação com Plataforma UseGalaxy**

O alinhamento das leituras ao genoma de referência humano hg38 foi realizado utilizando a plataforma UseGalaxy, por meio da ferramenta HISAT2. A quantificação da expressão gênica foi feita por meio da contagem de leituras mapeadas por gene, através da ferramenta FeatureCounts gerando matrizes de contagem utilizadas nas análises posteriores.

### **2.6 Análise de Expressão Gênica Diferencial Por meio da Ferramenta Limma-Voom + RUVg**

Inicialmente, o método Voom foi aplicado para transformar dados de RNA-Seq em valores de expressão contínua em escala log<sub>2</sub>FC. Essa transformação é fundamental para padronizar os dados e estabilizar a covariável referente a variância do tamanho das bibliotecas de sequenciamento. Na prática, a escala facilita a interpretação biológica, onde um valor de 1 representa o dobro da expressão gênica e um valor de -1 representa a metade, permitindo uma comparação entre genes superexpressos e reprimidos, bem como a análise de expressão diferencial mediante o pacote Limma.

Os valores transformados foram então analisados, permitindo a comparação entre os grupos experimentais (Doença de Huntington versus controles). A significância estatística das diferenças de expressão gênica foi avaliada por meio de testes estatísticos ajustados para o grande número de genes analisados, utilizando o método de False Discovery Rate (FDR), a fim de reduzir a ocorrência de resultados falso-positivos.

Essa abordagem incluiu a identificação robusta de genes diferencialmente expressos, forneceu uma base para as análises funcionais subsequentes e para a integração com dados de enriquecimento de vias biológicas com o número de repetições CAG.

Considerando que os dados analisados foram provenientes de diferentes fontes públicas (SRA e GTEx) e apresentavam elevado potencial de variação técnica, aplicou-se o método Remove Unwanted Variation using control genes (RUVg) para a correção de efeitos de confusão. Este método estima fatores latentes de variação indesejada com base em genes de controle negativo, gerando um fator de correção durante o processamento dos dados através do algoritmo RUVg.

A definição dos genes de controle negativo para o algoritmo RUVg foi baseada na estabilidade da expressão gênica entre todas as amostras analisadas. Foram selecionados os 1000 genes com menor variabilidade para servirem como controles negativos por permanecerem constantes, independentemente do grupo (HTT ou Controle), ou seja, qualquer oscilação desses genes representa variações técnicas indesejadas, permitindo que o modelo linear ajuste os dados sem remover o sinal biológico de interesse.

Este fator foi incluído diretamente na matriz de desenho como uma covariável, permitindo que o modelo linear isolasse o "efeito de lote" (batch effect), para mitigar potenciais variáveis de confusão e assegurar a reprodutibilidade dos achados. Essa abordagem foi fundamental para reduzir a inflação de falsos-positivos observada inicialmente e tornar os resultados de expressão gênica estatisticamente mais confiáveis para a caracterização da Doença de Huntington.



## 2.7 Análises de Enriquecimento de Conjuntos de Genes

A partir dos genes diferencialmente expressos, foram realizadas análises de enriquecimento funcional por meio de Over-Representation Analysis (ORA) e Gene Set Enrichment Analysis (GSEA), utilizando bases de dados como Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), com o objetivo de identificar vias biológicas significativamente alteradas na Doença de Huntington.

## 2.8 Correlação entre Conjuntos de Genes com Repetições CAG

Para investigar a relação entre a expressão gênica e o número de repetições CAG, foi realizada uma análise de correlação entre os níveis de expressão dos genes e os valores de expansão CAG dos indivíduos afetados. Essa abordagem avaliou tendências de associação entre a carga genética da mutação e a modulação transcriptômica observada

## 2.9 Observação Integrada Entre os Genes Mitocondriais Diferencialmente Expressos, e os Valores de Expansão CAG.

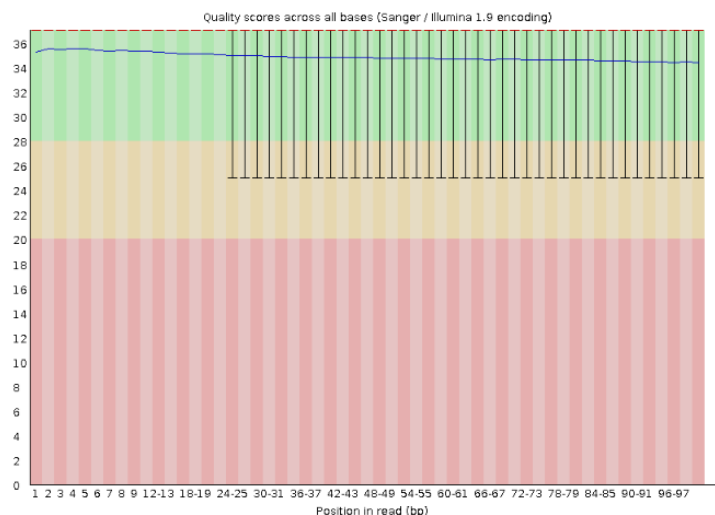
Por fim, foi realizada uma análise integrada focada nos genes mitocondriais diferencialmente expressos, incluindo aqueles codificados pelo DNA mitocondrial. Essa etapa teve como objetivo avaliar padrões coordenados de expressão e sua possível relação com o tamanho da expansão CAG, contribuindo para a compreensão da disfunção bioenergética associada à Doença de Huntington.

## 2.10 Processamento dos Dados Controle de Qualidade

As sequências no formato SRA foram selecionadas considerando o mesmo tipo de tecido, porém de pacientes distintos. Foram selecionadas as seguintes sequências de amostras do núcleo caudado: SRR25877063, SRR25877069, SRR25877072, SRR25877075 e SRR25877084.

Os dados brutos foram obtidos via SRA Toolkit e convertidos para o formato FASTQ. A avaliação da qualidade das reads foi conduzida no software FastQC. Através do software Trimmomatic via terminal, estabeleceu-se um patamar de qualidade rigoroso, mantendo-se apenas bases com q-score > 30, considerado o "padrão ouro" para a qualidade dos dados, como visto nas figuras 1 e 2, o que permitiu a otimização da qualidade das leituras para o posterior alinhamento com o genoma de referência humano na plataforma UseGalaxy.

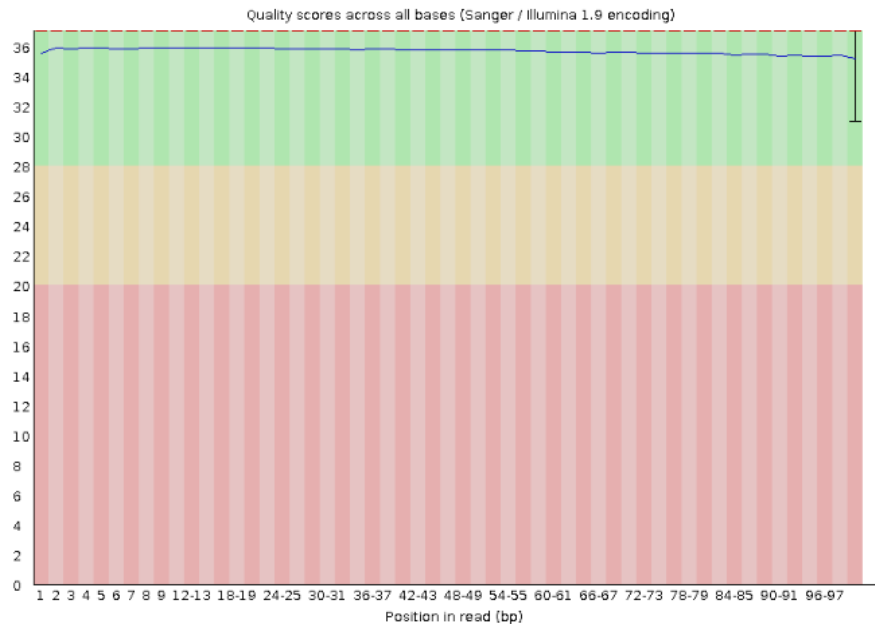
**Figura 1: Gráfico "per base sequence quality", indicando alguns q score abaixo de 30, ainda sem controle de qualidade.**





Fonte: Dados da Pesquisa, 2026

**Figura 2: Gráfico per base sequence quality”, indicando que todos os q score estão acima de 30.**



Fonte: Dados da Pesquisa, 2026.

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1 Alinhamento das Leituras ao Genoma e Quantificação da Expressão Gênica

As sequências tratadas foram alinhadas ao genoma de referência humano, permitindo a identificação dos genes ativos. Após esse mapeamento, os dados foram convertidos em uma matriz numérica de expressão gênica para quantificar a expressão de cada gene em todas as amostras. Por fim, essas contagens serviram de base para a análise estatística de expressão diferencial, comparando o perfil molecular dos pacientes com Doença de Huntington em relação ao grupo controle.

A análise inicial conduzida no edgeR identificou as amostras de Doença de Huntington (DH) e os controles do GTEx, permitindo a estimativa de divergências e a modelagem da variabilidade biológica. No entanto, os resultados revelaram um total de 34.549 genes diferencialmente expressos com  $FDR \leq 0,05$  (resultados falso-positivos de no máximo 5%), um número que se mostra biologicamente inconsistente, considerando que, de acordo com a National Human Genome Research Institute (2015) o genoma humano possui aproximadamente 20.000 genes codificadores de proteínas; um resultado desta magnitude indicaria uma reprogramação quase total do transcriptoma celular, o que não condiz com patofisiologia da Doença de Huntington.

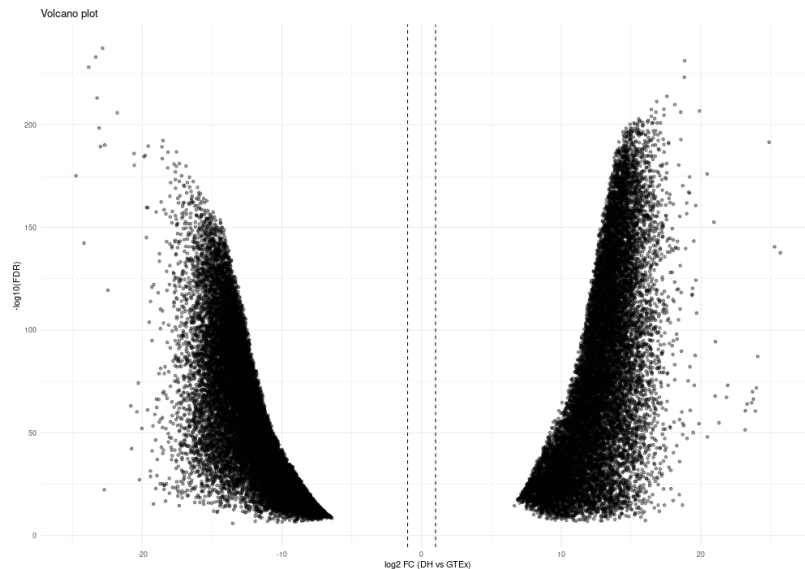
Este volume excessivo de genes significativos serviu como um forte indicativo de que as variações observadas não refletiam apenas a biologia da DH, mas sim discrepâncias técnicas entre as plataformas de sequenciamento e a manipulação dos tecidos de origens distintas (SRA e GTEx).

A presença de valores extremos e genes com variância biológica de zero impediu, inclusive, a geração de gráficos conclusivos de diagnóstico como mostra o gráfico volcano plot, presente na figura 3, confirmando que o efeito de lote (batch effect) sucedia por variações sistemáticas nos dados de origem técnica, em vez de biológica.



As diferenças entre os protocolos de sequenciamento do SRA e do GTEx (como profundidade de leitura e métodos de preparação de biblioteca) geraram uma variância técnica superior ao sinal biológico, por esse motivo, o modelo estatístico identificou erroneamente o ruído entre as plataformas como se fossem diferenças reais entre os grupos HTT e Controle. Portanto, esses 34.549 genes foram classificados como falsos-positivos, justificando a necessidade de uma reanálise com métodos de correção do *batch effect*.

**Figura 3: Distribuição da expressão diferencial de genes (Volcano Plot).**



Fonte: Dados da Pesquisa, 2026.

Cada ponto no gráfico representa um gene: os pontos vermelhos indicam genes diferencialmente expressos (DEGs) que atendem aos critérios de significância ( $FDR < 0,05$ ) e magnitude ( $\log_2FC$ ). Nesse caso, a ausência de genes destacados em vermelho e a distribuição irregular dos pontos pretos evidenciam a baixa confiabilidade estatística da análise inicial.

Esse perfil indica que a variação detectada pelo modelo foi obscurecida pelo ruído técnico entre as plataformas SRA e GTEx, impossibilitando a identificação de uma assinatura biológica clara da Doença de Huntington nesta etapa.

Diante desse cenário, a análise via edgeR foi mantida como registro diagnóstico, optando-se pela implementação de uma ferramenta mais robusta utilizando limma-voom associado ao método RUVg.

### 3.2 Análise de Expressão Gênica Diferencial

A aplicação do pipeline baseado em limma-voom associado ao RUVg foi determinante para a obtenção de resultados biologicamente plausíveis. Com a implementação do método RUVg, foi possível estimar e remover essa variação indesejada utilizando genes de controle estáveis. O impacto dessa correção no refinamento dos dados foi evidenciado pelos seguintes pontos:

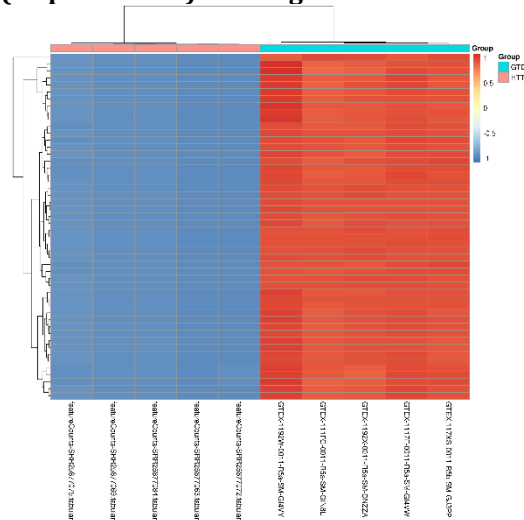
Foram identificados 15.685 genes diferencialmente expressos (DGEs) com critério:  $FDR \leq 0.01$  e  $|\log_2FC| \geq 1$ , que permitiu filtrar apenas os genes que apresentaram, simultaneamente, alta confiança estatística e uma alteração de expressão de no mínimo duas vezes (para mais ou para menos). Essa combinação é crucial para assegurar que os



genes selecionados representem diferenças biologicamente robustas na Doença de Huntington e maior confiabilidade dos resultados pós-correção sistemática do efeito de lote, evidenciada pela redução do número de genes diferencialmente expressos, sustentada visualmente pelo Heatmap (Figura 4) e pelo Volcano Plot (Figura 5), que apresenta uma distribuição clara de genes significativos.

Embora o elevado número de genes diferencialmente expressos (DGEs) seja compatível com a extensa desregulação transcriptômica observada na Doença de Huntington, especialmente no corpo estriado, limitações associadas à integração de bases de dados específicas (SRA e GTEX) devem ser consideradas na interpretação dos resultados, conforme descrito por Hodges *et al.* (2006).

**Figura 4: Heatmap (Mapa de Calor) dos 50 genes com maior expressão diferencial.**

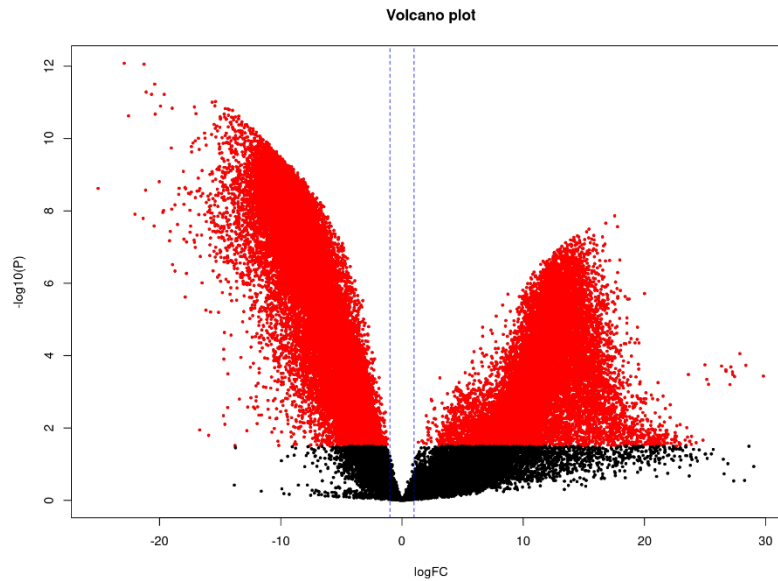


Fonte: Dados da Pesquisa, 2026

A gradação de cores presente no heatmap indica o nível de expressão: tons em vermelho representam genes com alta expressão, enquanto tons em azul indicam baixa expressão. O agrupamento no topo demonstra uma separação entre o grupo controle (GTEX) e o grupo Doença de Huntington (HTT). Essa organização visual demonstra que os 50 genes selecionados atuam como biomarcadores robustos e confirma que a doença impõe uma reprogramação transcricional coordenada e uniforme no núcleo caudado dos pacientes.



**Figura 5: Perfil de expressão diferencial após normalização por RUVg (Volcano Plot).**



Fonte: Dados da Pesquisa, 2026.

Diferente da análise inicial, observa-se agora uma clara identificação de genes diferencialmente expressos (pontos vermelhos) no volcano plot. A assimetria do gráfico, com uma densidade maior de genes significativos no lado esquerdo, confirma biologicamente uma repressão transcricional massiva e sistêmica. Esse padrão sugere que a mutação CAG pode contribuir para uma regulação negativa global da expressão de genes essenciais para a função e sobrevivência neuronal no núcleo caudado.

### 3.3 Análise de Enriquecimento Funcional (ORA e GSEA)

Após a identificação dos Genes Diferencialmente Expressos (DEGs), realizou-se a análise de enriquecimento funcional para categorizar as alterações moleculares em vias biológicas específicas. Por meio da *Over-Representation Analysis* (ORA) aplicada à base de dados KEGG, adotando-se o critério de significância de p-valor ajustado (FDR) < 0,05; observou-se que a desregulação gênica na Doença de Huntington não ocorre de forma aleatória, apresentando uma super-representação estatisticamente significativa em vias críticas do metabolismo energético. Entre os achados mais consistentes, destacam-se a repressão severa da Fosforilação Oxidativa (OXPHOS), sugerindo um padrão de repressão global na infraestrutura bioenergética celular.

Para complementar os resultados obtidos por meio da ORA, foi utilizado a ferramenta *Gene Set Enrichment Analysis* (GSEA) que analisa a tendência coletiva de um grupo de genes, fornecendo uma visão mais robusta dos processos biológicos.

Os resultados obtidos via GSEA-KEGG confirmaram uma repressão global e coordenada de vias metabólicas essenciais. A via de Fosforilação Oxidativa (hsa00190) destacou-se como o achado mais robusto, apresentando um *Normalized Enrichment Score* (NES) de -1,92 e um p-valor significativo < 0,0001. Esse valor de NES, métrica que indica a magnitude e a direção do enriquecimento de um conjunto de genes, inferior a -1,8 indica uma alteração biológica, caracterizada pela regulação negativa (*downregulation*) de 130 genes que compõem a cadeia respiratória mitocondrial nas amostras com Doença de Huntington.

Além das alterações relacionadas ao metabolismo energético, observou-se uma repressão coordenada em vias associadas ao metabolismo de aminoácidos (hsa00250) e



à síntese de nucleotídeos, incluindo as vias de purinas (hsa00230) e pirimidinas (hsa00240), como mostra a tabela 1. De acordo com Lane e Fan (2015), a redução na expressão de genes envolvidos no metabolismo de aminoácidos como aspartato e glutamato pode comprometer a disponibilidade de precursores necessários para a produção de purinas e pirimidinas, componentes vitais do DNA, RNA e do ATP.

A convergência da falha na Fosforilação Oxidativa com o declínio nas vias de Purinas e Pirimidinas sugere um cenário crítico de vulnerabilidade no núcleo caudado que transcende o déficit energético isolado. A interpretação desses achados propõe que o neurônio na DH enfrenta um bloqueio biológico duplo: enquanto a disfunção mitocondrial reduz a oferta de energia para processos celulares ativos, a escassez de nucleotídeos impede a execução de meios de reparo genômico e a síntese de novos transcritos.

Essa desregulação coordenada indica que a toxicidade da proteína mutante impõe um estado de "inatividade biológica", no qual a célula carece simultaneamente de energia para funcionar e de matéria-prima para sua manutenção. A incapacidade de sustentar o metabolismo de nucleotídeos e aminoácidos torna os neurônios incapazes de resistir ao estresse oxidativo crônico e de realizar o reparo de danos no DNA, processos essenciais para a sobrevivência celular no corpo estriado.

Em suma, essas descobertas sinalizam que a disfunção associada à expansão CAG promove um colapso sistêmico que limita a manutenção celular básica. Esse padrão parece corroborar a perspectiva de exaustão metabólica como fator determinante para a vulnerabilidade neuronal seletiva observada na Doença de Huntington.

**Tabela 1: A tabela detalha as vias metabólicas da base KEGG afetadas na Doença de Huntington. O NES (Normalized Enrichment Score) negativo em todas as vias principais indica uma repressão generalizada dessas funções biológicas.**

ID (Pathway)	Descrição KEGG	Valor-p	p-adj (FDR)	ES	NES	Tamanho (Size)
Hsa00190	Fosforilação Oxidativa	0,008	0,032	-0,5	-1,9	130
hsa00250	Alanina, aspartato e glutamato	0,003	0,014	-0,5	-1,44	36
hsa00130	Biossíntese de ubiquinona/quinonas	0,006	0,023	-0,64	-1,57	12
hsa00230	Metabolismo de purinas	0,021	0,062	-0,38	-1,2	122
hsa00240	Metabolismo de pirimidinas	0,037	0,096	-0,4	-1,22	56
hsa00030	Via das pentoses fosfato	0,124	0,243	-0,42	-1,2	29
hsa00020	Ciclo do Ácido Cítrico (TCA)	0,144	0,272	-0,41	-1,17	29
hsa00120	Biossíntese de ácidos biliares	0,58	0,748	-0,36	-0,95	16

Fonte: Elaborado pela autora, 2026

### 3.4 Integração Transcriptômica: Repressão Metabólica e Expansão CAG

A integração dos dados de enriquecimento funcional obtidos pelo GSEA com a avaliação da influência da expansão CAG revelou que o colapso do metabolismo energético no núcleo caudado é um evento molecular progressivo e de associação sugestiva pela expansão da mutação na Doença de Huntington.

Genes fundamentais para a estrutura e função mitocondrial apresentaram coeficientes de correlação  $\beta_{CAG}$  negativos. O coeficiente  $\beta$  indica a direção e a intensidade da relação entre a expressão gênica e o aumento das repetições, sendo assim, esse padrão indica que, quanto maior a expansão da poliglutamina na proteína



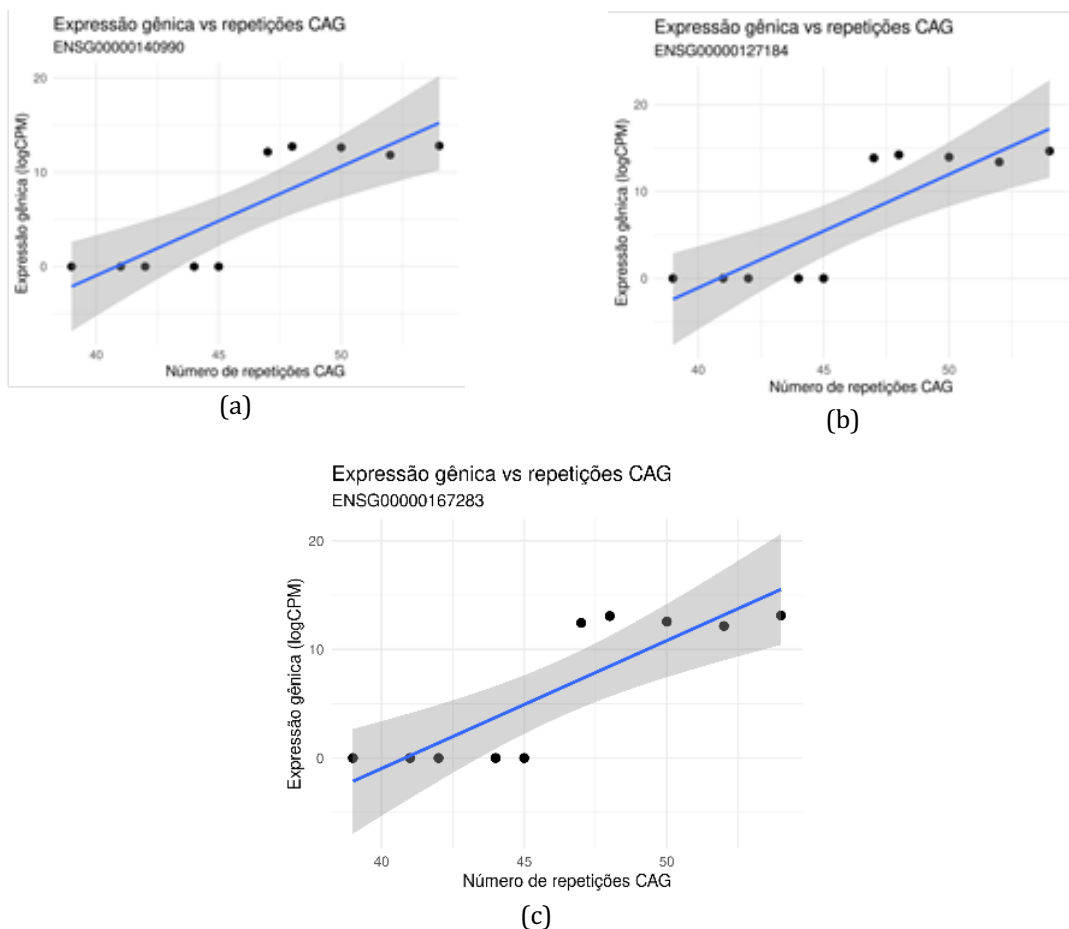
huntingtina, mais acentuada é a redução na expressão de genes críticos para a função mitocondrial.

Como exemplos marcantes desse fenômeno, destacam-se os genes *NDUFB10* ( $\beta_{\text{CAG}} = -0,019$ ; p-valor = 0,024) e *COX7C* ( $\beta_{\text{CAG}} = -0,016$ ; p-valor = 0,023), componentes essenciais dos complexos enzimáticos I e IV da cadeia de transporte de elétrons, respectivamente e evidenciados na figura 6. Adicionalmente, o gene *ATP5MG* ( $\beta_{\text{CAG}} = -0,022$ ; p-valor = 0,023), integrante da ATP sintase (Complexo V), também exibiu uma correlação negativa significativa, evidenciando que tanto a transferência de elétrons quanto a síntese final de ATP são comprometidas proporcionalmente à expansão genotípica.

Embora a análise quantitativa gene a gene aprofunde a compreensão dos mecanismos da doença, deve-se notar que o reduzido número de amostras com valores de CAG disponíveis (n=5) representa uma limitação importante deste estudo.

No entanto, a consistência da direção dos coeficientes  $\beta_{\text{CAG}}$  negativos oferece uma evidência robusta de que o dano celular progride de forma linear com o determinante genético da patologia.

**Figura 6: Correlação entre a expressão de genes mitocondriais e a expansão de repetições CAG.**



Fonte: Dados da Pesquisa, 2026.



Os gráficos de dispersão apresentam a análise de regressão linear para os genes (A) NDUFB10, (B) COX7C e (C) ATP5MG. O eixo horizontal representa o número de repetições CAG e o eixo vertical a expressão gênica normalizada ( $\log_2FC$ ). A inclinação negativa das retas (coeficientes de correlação  $\beta_{CAG}$  negativos) demonstra que o agravamento da mutação genética está diretamente associado a uma redução progressiva na expressão de genes vitais para a bioenergia celular, evidenciando o efeito tóxico da expansão da poliglutamina sobre o metabolismo mitocondrial.

### 3.5 Colapso do Transcriptoma Mitocondrial (mtDNA) e Assinatura Dependente de CAG

A análise focada nos genes diferencialmente expressos de origem mitocondrial revelou um cenário de supressão transcricional singular. Diferente dos genes nucleares, os 13 genes codificados pelo DNA mitocondrial (mtDNA), essenciais para a formação dos complexos I, III, IV e V da cadeia respiratória, apresentaram uma regulação negativa drástica, com valores de  $\log_2FC$  situados entre -16 e -21. Este resultado aponta para uma falência da transcrição mitocondrial endógena no núcleo caudado de pacientes com DH.

Entre os genes mais afetados, destacam-se o MT-ND4 ( $\log_2FC = -21,28$ ) e o MT-ND1 ( $\log_2FC = -20,39$ ), componentes do Complexo I, além do MT-CO3 ( $\log_2FC = -20,65$ ) e do MT-ATP6 ( $\log_2FC = -19,61$ ). A integração dos dados com a avaliação da influência da expansão CAG demonstrou uniformidade nos valores de  $\beta_{CAG}$ , p-valor e p-ajustado entre todos os genes mitocondriais, apresentando coeficientes próximos de zero, porém sem grande significância estatística (Valor-p = 0,86).

Esse padrão sugere que, embora ocorra um colapso global da expressão do transcriptoma mitocondrial na Doença de Huntington, tal repressão não apresenta uma associação significativa com a magnitude da expansão CAG dentro do grupo afetado. Assim, os resultados indicam que a disfunção mitocondrial observada pode representar um fenômeno central na doença e que, uma vez iniciada a degeneração, o dano atinge um limiar que não depende da carga genética específica da mutação patológica.

A uniformidade dos coeficientes entre os genes do mtDNA reforça a hipótese de uma falência coordenada da unidade de transcrição mitocondrial. Esse fenômeno é decorrente da organização genômica da organela, na qual promotores comuns nas fitas promovem a expressão coordenada de múltiplos genes em um único transcrito. (Mercer *et al.*, 2011). Assim, a severa repressão observada nesta pesquisa (Quadro 2) indica que o colapso energético no núcleo caudado é um evento organizado e absoluto, resultando no silenciamento simultâneo de todos os componentes da cadeia respiratória.

**Tabela 2: Perfil de expressão diferencial e correlação genotípica dos genes codificados pelo DNA mitocondrial (mtDNA) O quadro apresenta os parâmetros estatísticos para os 13 genes de codificação proteica do genoma mitocondrial. Os valores de  $\log_2FC$  extremamente reduzidos (variando entre -16,29 e -22,55) revelam indicam uma disfunção sistêmica desses genes no núcleo caudado de pacientes com DH<sup>5</sup>.**

ID ENSEMBL	SYMBOL	$\log_2FC$
ENSG00000198886	MT-ND4	-21,28
ENSG00000198888	MT-ND1	-20,4
ENSG00000198938	MT-CO3	-20,66

<sup>5</sup> Todos os genes codificados pelo mtDNA apresentaram uniformidade estatística na correlação com a expansão CAG, com coeficiente  $\beta_{CAG} = 0,0018$ , p-valor = 0,864 e p-ajustado = 0,938.



ENSG00000198899	MT-ATP6	-19,61
ENSG00000198712	MT-CO2	-19,92
ENSG00000198695	MT-ND6	-17,12
ENSG00000198786	MT-ND5	-18,95
ENSG00000198763	MT-ND2	-20,36
ENSG00000198804	MT-CO1	-22,55
ENSG00000228253	MT-ATP8	-16,29
ENSG00000212907	MT-ND4L	-17,24
ENSG00000198727	MT-CYB	-19,03
ENSG00000198840	MT-ND3	-17,35

Fonte: Elaborado pela autora, 2026

#### 4. Discussão

O presente estudo sugere a presença de uma desregulação metabólica substancial no núcleo caudado de indivíduos com doença de Huntington (DH), caracterizada por uma repressão transcricional coordenada nos genomas nuclear e mitocondrial. A identificação de 15.685 genes diferencialmente expressos (DEGs) após a correção pelo método RUVg, embora o número elevado de genes diferencialmente expressos possa refletir a magnitude da desregulação transcriptômica na DH, limitações inerentes à integração de bases distintas (SRA e GTEX) não podem ser completamente descartadas.

É fundamental ressaltar que esse volume não representa um artefato técnico, uma vez que a análise inicial sem correção apresentava um número inconsistente de 34.549 genes, evidenciando o ruído entre as plataformas SRA e GTEX. A aplicação de critérios rigorosos de significância ( $FDR \leq 0.01$ ) e magnitude ( $|\log_2FC| \geq 1$ ) permitiu filtrar assinaturas biologicamente robustas. Esse cenário de alteração massiva corrobora achados de Labadorf *et al.*, (2015), sugerindo que a toxicidade da proteína mutante promove uma reprogramação transcricional sistêmica e não apenas alterações isoladas.

Esse volume de alterações transcricionais e a degeneração observada no núcleo caudado são condizentes com o papel da huntingtina mutante na patogênese da doença. A proteína mutante atua como um disruptor sistêmico, desencadeando eventos precoces de desregulação transcricional, disfunção sináptica, alterações axonais e dano oxidativo, que culminam em uma severa disfunção mitocondrial (Tabrizi *et al.*, 2019).

O achado mais crítico desta pesquisa encontra-se no silenciamento massivo dos 13 genes codificados pelo DNA mitocondrial (mtDNA). Enquanto a literatura frequentemente foca na disfunção de proteínas mitocondriais de origem nuclear (Cui *et al.*, 2006), os dados aqui apresentados indicam que o padrão de repressão global pode ser mais profundo, atingindo diretamente a transcrição endógena da organela. Com valores de  $\log_2FC$  situados entre -16 e -22, acredita-se que a transcrição endógena da mitocôndria seja um alvo direto ou indireto da toxicidade da poliglutamina tornando-a praticamente paralisada nos tecidos afetados. Estes genes mitocondriais são fundamentais, pois codificam subunidades proteicas essenciais para o metabolismo oxidativo e integram os complexos da cadeia respiratória (Kim *et al.*, 2010). Consequentemente, sua ausência consolida uma falha catastrófica na fosforilação oxidativa, comprometendo a homeostase energética neuronal.



Diferentemente dos genes nucleares, como o NDUFB10 e o COX7C, que apresentaram uma correlação linear negativa significativa com o aumento das repetições CAG, o transcriptoma mitocondrial (mtDNA) demonstrou um comportamento de platô. A ausência de significância estatística na correlação CAG para o mtDNA (Valor-p = 0,86). É fundamental ressaltar que a ausência de correlação linear para o mtDNA deve ser interpretada com cautela devido ao número reduzido de amostras (n=5 para o grupo HTT). Esta limitação amostral impede a afirmação de que não há influência do CAG; todavia, os dados sugerem que o a repressão mitocondrial atinge um limiar de saturação precocemente. Ou seja, acima do limiar patológico de repetições da poliglutamina, a maquinaria mitocondrial parece sofrer um impacto funcional que não depende mais da carga genética em excesso, representando um estado terminal de exaustão metabólica no corpo estriado.

Além da falha energética, a análise integrada revelou que a repressão das vias de metabolismo de aminoácidos como Alanina, Aspartato e Glutamato poderia limitar a oferta de precursores para sobrevivência neuronal. A redução na expressão de genes ligados ao aspartato e glutamato priva o neurônio de doadores de nitrogênio essenciais para a síntese de purinas e pirimidinas. Como demonstrado por Birsoy et al. (2015) na ausência desses nucleotídeos, a célula perde a capacidade de reparar danos no DNA e de sintetizar novos transcritos, agravando o ciclo de morte celular. Assim, este estudo adiciona uma camada de compreensão ao modelo de neurodegeneração da DH, sugerindo que o neurônio não apenas padece por falta de ATP, mas enfrenta um impedimento estrutural de autorreparo por escassez de blocos construtores moleculares.

Importante destacar a ausência de validação experimental independente como uma limitação relevante do estudo. As conclusões apresentadas baseiam-se exclusivamente em análises *in silico*, o que, embora seja uma abordagem robusta para geração de hipóteses, não permite confirmar diretamente o impacto funcional das alterações transcricionais apresentadas.

A validação por técnicas complementares, como RT-qPCR, western blot ou análises proteômicas, seria fundamental para corroborar a magnitude e a relevância biológica dos genes diferencialmente expressos, especialmente aqueles apontados como centrais na disfunção mitocondrial. Nesse sentido, os achados aqui descritos devem ser considerados como uma base exploratória que orienta futuras investigações experimentais.

Em suma, a presente pesquisa reforça a perspectiva de que a patogênese da Doença de Huntington no corpo estriado envolve uma falência multissetorial. Ao destacar o silenciamento extremo do mtDNA e a crise na síntese de nucleotídeos, o estudo propõe que estratégias de resgate metabólico devem considerar não apenas a função mitocondrial, mas também o suporte à biossíntese de precursores genômicos.

## 5. Conclusão

A presente investigação mapeou o cenário transcriptômico do núcleo caudado de pacientes com DH, sugerindo que o desequilíbrio do metabolismo energético configura um dos marcos moleculares mais acentuados da patologia.

Os achados sugerem que a progressão da doença pode ser compreendida, em parte, como um processo de comprometimento bioenergético progressivo. A identificação de coeficientes  $\beta$ \_CAG negativos em genes-chave da cadeia respiratória, como NDUFB10, COX7C e ATP5MG, reforça a associação viável entre a expansão CAG e a redução da expressão de componentes essenciais à fosforilação oxidativa.

Ademais o expressivo baixo nível de transcritos codificados pelo DNA mitocondrial (mtDNA), como MT-ND4 e MT-CO1 sugere que a toxicidade da huntingtina mutante



desencadeia uma desestruturação profunda do transcriptoma mitocondrial no tecido estriatal.

A consistência da assinatura metabólica observada aponta para alvos potenciais em estudos futuros, especialmente no contexto da modulação gênica e da identificação de biomarcadores de progressão da doença.

Em conjunto, os resultados reforçam o papel central da disfunção mitocondrial na Doença de Huntington e sustentam a investigação de estratégias terapêuticas voltadas para a preservação da função energética celular como abordagem promissora para reduzir a vulnerabilidade neuronal.

## Referências

AYLWARD, E. H. *et al.* Rate of caudate atrophy in presymptomatic and symptomatic stages of Huntington's disease. **Movement Disorders**, v. 15, n. 3, p. 552–560, maio 2000.

BATES, G. P. *et al.* Huntington disease. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 1, n. 1, 23 abr. 2015.

BIRSOY, K. *et al.* An Essential Role of the Mitochondrial Electron Transport Chain in Cell Proliferation Is to Enable Aspartate Synthesis. **Cell**, v. 162, n. 3, p. 540–551, jul. 2015.

BUCKLEY, N. J. *et al.* The role of REST in transcriptional and epigenetic dysregulation in Huntington's disease. **Neurobiology of Disease**, v. 39, n. 1, p. 28–39, jul. 2010.

CUI, L. *et al.* Transcriptional Repression of PGC-1 $\alpha$  by Mutant Huntingtin Leads to Mitochondrial Dysfunction and Neurodegeneration. **Cell**, v. 127, n. 1, p. 59–69, out. 2006.

HDCR, 1993. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. **The Huntington's Disease Collaborative Research Group**. *Cell*, 72, 971–983.

HODGES, A. *et al.* Regional and cellular gene expression changes in human Huntington's disease brain. **Human Molecular Genetics**, v. 15, n. 6, p. 965–977, 8 fev. 2006.

JURCAU, A.; JURCAU, C. Mitochondria in Huntington's disease: implications in pathogenesis and mitochondrial-targeted therapeutic strategies. **Neural Regeneration Research**, v. 0, n. 0, p. 0, 2023.

KIM, J. *et al.* Mitochondrial loss, dysfunction and altered dynamics in Huntington's disease. **Human Molecular Genetics**, v. 19, n. 20, p. 3919–3935, 15 out. 2010.

LABADORF, A. *et al.* RNA Sequence Analysis of Human Huntington Disease Brain Reveals an Extensive Increase in Inflammatory and Developmental Gene Expression. **PLOS ONE**, v. 10, n. 12, p. e0143563, 4 dez. 2015.

LANE, A. N.; FAN, T. W-M. Regulation of mammalian nucleotide metabolism and biosynthesis. **Nucleic Acids Research**, v. 43, n. 4, p. 2466–2485, 27 jan. 2015.



MERCER, TIM R. et al. *The Human Mitochondrial Transcriptome*. **Cell**, v. 146, n. 4, p. 645–658, ago. 2011.

NATIONAL HUMAN GENOME RESEARCH INSTITUTE, 2015 Green, E. (n.d.). **Gene. Genome.gov**. Disponível em: <<https://www.genome.gov/genetics-glossary/Gene>>. Acesso em: 03 de abril. 2026.

SATHASIVAM, K. et al. *Aberrant splicing of HTT generates the pathogenic exon 1 protein in Huntington disease*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 6, p. 2366–2370, 22 jan. 2013.

SCHULTE, J.; LITTLETON, J. T. *The biological function of the Huntingtin protein and its relevance to Huntington's Disease pathology*. **Current trends in neurology**, v. 5, p. 65, 2011.

TABRIZI, S. J.; GHOSH, R.; LEAVITT, B. R. *Huntingtin Lowering Strategies for Disease Modification in Huntington's Disease*. **Neuron**, v. 101, n. 5, p. 801–819, mar. 2019.

VIRLOGEUX, A. et al. *Increasing brain palmitoylation rescues behavior and neuropathology in Huntington disease mice*. **Science Advances**, v. 7, n. 14, 2 abr. 2021.

YAN, X. et al. *Abnormal Mitochondrial Quality Control in Neurodegenerative Diseases*. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 14, 23 jun. 2020.