Camila de Freitas Almeida

Identificação e estudo de genes
diferencialmente expressos em modelos
murinos de distrofia muscular

Identification and study of differentially
expressed genes in mouse models for
muscular dystrophy

São Paulo

2014

Camila de Freitas Almeida

Identificação e estudo de genes
diferencialmente expressos em modelos
murinos de distrofia muscular

Identification and study of differentially
expressed genes in mouse models for
muscular dystrophy

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biociências da
Universidade de São Paulo, para
a obtenção de Título de Mestre
em Ciências, na Área de
Genética.

Orientadora: Dra. Mariz Vainzof

São Paulo

2014

Ficha Catalográfica

Almeida, Camila de Freitas

Identificação e estudo de genes
diferencialmente expressos em modelos
murinos de distrofia muscular

237p.

Dissertação (Mestrado) - Instituto
de Biociências da Universidade de São
Paulo. Departamento de Genética e
Biologia Evolutiva.

1. Distrofias musculares 2.
Modelos murinos 3. Expressão gênica
global I. Universidade de São Paulo.
Instituto de Biociências. Departamento
de Genética e Biologia Evolutiva.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr.(a). Mariz Vainzof
Orientador(a)

Dedicatória

A todos que possibilitam e confiam na ciência

Epígrafe

A ideia de que somente é belo o que é jovem e novo envenena nossas relações com o passado e com o nosso próprio futuro. A ideia de que somente é belo o que é jovem e novo nos impede de compreender as nossas raízes e as maiores obras de nossa cultura e das outras culturas. A ideia de que somente é belo o que é jovem e novo nos faz recear o que está à nossa frente e não entendemos, e leva muita gente a fugir da realidade.

Walter Arnold Kaufmann

Agradecimentos

À minha mãe e ao meu pai, que mesmo com tudo contando contra, deram-me a oportunidade de estudar além do que eles poderiam imaginar. Sem o esforço, dedicação e cuidado deles, eu sequer poderia ter sonhado em ingressar nesta universidade. O apoio deles foi e ainda é a condição essencial para eu ter chegado até aqui.

Meus sinceros agradecimentos à minha orientadora Mariz Vainzof, que me recebeu de braços abertos em sua equipe há seis anos, por toda a confiança depositada em mim e por todas as oportunidades proporcionadas ao longo desses anos. E claro, pela orientação na elaboração, execução e finalização deste projeto, mesmo com todas as dificuldades impostas pela vida acadêmica burocrática... Como ela mesma diz: ela não deixa a peteca cair!

À Lydia, sempre tão gentil e atenciosa, foi quem me recebeu no primeiro dia de laboratório e me ensinou os primeiros passos da biologia molecular.

Aos meus colegas: Leticia, Paula, Poliana, Priscila, Stephanie, André, Aurea, Renata, Antônio, Marina, Daniel, Marta, e tantos outros que passaram por aqui durante esses anos, sem os quais o laboratório simplesmente não existiria!

Poli, muito obrigada por me contar todos os segredos dos seus camundongos mais amados! Espero que meu trabalho seja apenas o primeiro fruto do seu grande empenho. E por me ensinar tantas coisas científicas e não científicas. O seu apoio (só faltou ligar para a Dilma!) foi crucial nesses últimos meses tão complicados.

Lê, você é a minha grande parceira nesse laboratório, minha cúmplice, em quem sempre encontro apoio e que me trata com muito carinho. Nós somos, definitivamente, as "bicho-ruim" do lab!

Paula, muito obrigada por me ensinar os segredos dos microarrays e ter sempre um bom comentário a fazer, que dá aquela luz! O seu raciocínio lógico e rápido são fundamentais no laboratório, aprendo muito com você.

Pri, muito obrigada pela ajuda na identificação de inúmeros camundongos e ter me livrado das mordidas dos bichinhos!

Agradeço também aos colegas de outros laboratórios: Simone, por ajudar com os experimentos de microarray; Lucas e Gerson, com a ajuda nas análises; ao Marcelo Boareto, do Instituto de Física, pela disponibilidade e paciência para me ensinar truques do pacote R e estatística; e aos alunos da professora Mayana, que estão sempre por perto.

Agradeço aos meus colegas de graduação, especialmente ao Adriano, que foi quem me trouxe para esse laboratório e com quem passei momentos muito bons nos anos da graduação, nos quais nos víamos "todos os dias, o dia inteiro"; mesmo estando longe, sei que posso sempre contar com a sua amizade!

Ao meu namorado Wesley, que é antes de tudo um grande amigo, sempre presente, com quem pude dividir todas as angústias e alegrias dessa fase. Obrigada por todo apoio, por sempre me incentivar, não deixar que eu desanimasse. Pela compreensão por tantos compromissos desfeitos por conta das horas extras, finais de semana e feriados no lab. Está sempre disposto a ajudar, não mede esforços para realizar um pedido meu; mesmo sendo de uma área completamente diferente da Biologia, leu essa dissertação ponto por ponto, deu sua opinião, me ajudou com as figuras, corrigiu. Esse trabalho tem o seu dedo também!

Agradeço também à Heloísa e Rose, que facilitam muito o nosso trabalho, cuidando do biotério. À Vanessa e Wagner, sempre prestativos e eficientes nas questões administrativas. E a todos os funcionários do CEGH.

Não poderia deixar de agradecer aos camundongos, que são o cerne deste trabalho.

Agradeço às agências FAPESP, CNPq e Capes pelo financiamento deste projeto.

Lista de siglas

BMD: distrofia muscular de Becker
cDNA: DNA codificante
CMD: distrofia muscular congênita
DAVID: Database for Annotation, Visualization and Integrate Discovery
DGA: distrofina-glicoproteínas associadas
DMD: distrofia muscular de Duchenne
EDL: músculo extensor longo dos dedos
EOM: músculo extraocular
FDR: descoberta de falso-positivo
GDE: genes diferencialmente expressos
GO: Gene Ontology
IPA: Ingenuity Pathway Analysis
KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
MeV: Multiexperiment Viewer
MRF: fator de regulação miogênica
mRNA: RNA mensageiro
nNOS: óxido nítrico sintase neuronal
NO: óxido nítrico
PCR: reação da polimerase em cadeia
RMA: Robust Multichip Average
SAM: Significance Analysis of Microarray
TA: tibial anterior
UV: ultravioleta

Lista de figuras

Figura 1 - Etapas da diferenciação miogênica. Extraído de Almeida C F, Ayub-Guerrieri D,Vainzof M. Myogenic differentiation of ES cells for therapies in neuromuscular diseases: progress to date. In: Kallos MS, editor. Embryonic stem cells - differentiation and pluripotent alternatives. 2011. p. 227-242.....	21
Figura 2 - Miogênese no tecido adulto. Extraído de Almeida C F, Ayub-Guerrieri D,Vainzof M. Myogenic differentiation of ES cells for therapies in neuromuscular diseases: progress to date. In: Kallos MS, editor. Embryonic stem cells - differentiation and pluripotent alternatives. 2011. p. 227-242.	21
Figura 3 - Organização do músculo esquelético. Modificado de http://imgarcade.com/1/cardiac-tissue-diagram/	22
Figura 4 - Complexo distrofina-glicoproteínas associadas. Extraído de Kay E Davies & Kristen J Nowak <i>Nature Reviews Molecular Cell Biology</i> 7, 762-773 (October 2006).....	23
Figura 5 - Animais duplo-mutantes em diferentes idades, comparados com o <i>Dmd^{mdx}</i>	31
Figura 6 - Resumo dos procedimentos com o <i>GeneChip® Mouse Gene 1.0 ST Array</i>	42
Figura 7 - Géis de agarose 2% corado com brometo de etídio (a - e). Amostras de RNA; é possível visualizar as bandas do RNA ribossômico 28S e 18S. A banda de contaminação de DNA fica acima da banda 28S	55
Figura 8 - Eletroferogramas e respectivos RIN das 60 amostras do estudo. Amostras com RIN igual ou superior a 7 são de boa qualidade	58
Figura 9 - Gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo mostrando a fragmentação de algumas amostras	60
Figura 10 - Imagens das lâminas dos microarranjos. Estão ilustradas uma amostra de cada idade e linhagem para exemplificação	61
Figura 11 - Controle de hibridização do oligo B2. O nome do chip deve ser formado completamente.....	61
Figura 12 - Valores de bgrd_mean (vermelho) e pm_mean (azul). Amostras de 21 dias. Em todos os casos o valor de pm_mean é superior ao de bgrd_mean	62
Figura 13 - Valores de bgrd_mean (vermelho) e pm_mean (azul). Amostras de 3 meses. Em todos os casos o valor de pm_mean é superior ao de bgrd_mean	62
Figura 14 - Valores de bgrd_mean (vermelho) e pm_mean (azul). Amostras de 6 meses. Em todos os casos o valor de pm_mean é superior ao de bgrd_mean	63
Figura 15 - Valores de pos_vs_neg_auc das amostras de 21 dias. Todas as amostras apresentam valores entre 0,89 e 0,91	63
Figura 16 - Valores de pos_vs_neg_auc das amostras de 3 meses. Todas as amostras apresentam valores entre 0,89 e 0,92	64

Figura 17 - Valores de pos_vs_neg_auc das amostras de 6 meses. Todas as amostras apresentam valores entre 0,88 e 0,92	64
Figura 18 - Controles de hibridização bac_spike das amostras de 21 dias	65
Figura 19 - Controles de hibridização bac_spike das amostras de 3 meses	65
Figura 20 - Controles de hibridização bac_spike das amostras de 6 meses	65
Figura 21 - Controles de RNA poly-A. Amostras de 21 dias	66
Figura 22 - Controles de RNA poly-A. Amostras de 3 meses	66
Figura 23 - Controles de RNA poly-A. Amostras de 6 meses	66
Figura 24 - Histograma de intensidade de sinal das amostras de 21 dias, com padrão próximo à normal	67
Figura 25 - Histograma de intensidade de sinal das amostras de 3 meses, com padrão próximo à normal	67
Figura 26 - Histograma de intensidade de sinal das amostras de 6 meses, com padrão próximo à normal	68
Figura 27 - Gráficos com intensidade dos agrupamentos de sondas antes (A) e depois (B) da normalização. Amostras de 21 dias	68
Figura 28 - Gráficos com intensidade dos agrupamentos de sondas antes (A) e depois (B) da normalização. Amostras de 3 meses	69
Figura 29 - Gráficos com intensidade dos agrupamentos de sondas antes (A) e depois (B) da normalização. Amostras de 6 meses	69
Figura 30 - Análise <i>Dmd^{mdx}</i> vs <i>C57BL</i> 21 dias. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 75 genes identificados	71
Figura 31 - Análise <i>Large^{myd^{-/-}}</i> vs <i>C57BL</i> 21 dias. Gráfico gerados após a análise estatística SAM; 142 genes identificados.....	71
Figura 32 - Análise <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}</i> vs <i>C57BL</i> 21 dias. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 106 genes identificados	71
Figura 33 - Análise <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}</i> vs <i>Dmd^{mdx}</i> 21 dias. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 185 genes identificados	71
Figura 34 - Análise <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}</i> vs <i>Large^{myd^{-/-}}</i> 21 dias. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 36 genes identificados	71
Figura 35 - Análise <i>Dmd^{mdx}</i> vs <i>C57BL</i> 3 meses. Gráfico gerados após a análise estatística SAM; 225 genes identificados.....	Erro! Indicador não definido.
Figura 36 - Análise <i>Large^{myd^{-/-}}</i> vs <i>C57BL</i> 3 meses. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 200 genes identificados.....	72
Figura 37 - Análise <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}</i> vs <i>C57BL</i> 3 meses. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 350 genes identificados	72
Figura 38 - Análise <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}</i> vs <i>Dmd^{mdx}</i> 3 meses. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 58 genes identificados	72

Figura 39 - Análise <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> vs <i>Large^{myd-/-}</i> 3 meses. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 22 genes identificados	72
Figura 40 - Análise <i>Dmd^{mdx}</i> vs <i>C57BL</i> 6 meses. Gráfico gerados após a análise estatística SAM; 508 genes identificados.....	72
Figura 41 - Análise <i>Large^{myd-/-}</i> vs <i>C57BL</i> 6 meses. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 291 genes identificados.....	72
Figura 42 - Análise <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> vs <i>C57BL</i> 3 meses. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 344 genes identificados	73
Figura 43 - Análise <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> vs <i>Dmd^{mdx}</i> 6 meses. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 44 genes identificados	73
Figura 44 - Análise <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> vs <i>Large^{myd-/-}</i> 6 meses. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 39 genes identificados	73
Figura 45 - Totais de genes diferencialmente expressos após a anotação	75
Figura 46 - Número de genes diferencialmente expressos no tecido muscular	76
Figura 47 - Diagrama de Venn reunindo todos os genes diferencialmente expressos nas três idades de cada linhagem. No centro estão os genes compartilhados por todas as linhagens e idades.....	77
Figura 48 - A: diagrama de Venn reunindo os genes diferencialmente expressos nas três linhagens com 21 dias. No centro estão os 63 genes compartilhados por todas as linhagens nessa idade. B: genes comuns a cada uma das idades; na área hachurada estão destacados os 17 genes com expressão diferencial em todas as linhagens somente na idade de 21 dias	79
Figura 49 - A: diagrama de Venn reunindo os genes diferencialmente expressos nas três linhagens com 3 meses. No centro estão os 88 genes compartilhados por todas as linhagens nessa idade. B: genes comuns a cada uma das idades; na área hachurada estão destacados os 11 genes com expressão diferencial em todas as linhagens somente na idade de 3 meses.....	80
Figura 50 - A: diagrama de Venn reunindo os genes diferencialmente expressos nas três linhagens com 6 meses. No centro estão os 127 genes compartilhados por todas as linhagens nessa idade. B: genes comuns a cada uma das idades; na área hachurada estão destacados os 55 genes com expressão diferencial em todas as linhagens somente na idade de 6 meses.....	81
Figura 51 - Categorias de funções biológicas enriquecidas nos animais de 21 dias. A, C e E: distribuição de todas as categorias. B, D e F: distribuição das categorias sem contar as funções do sistema imune e inflamação.....	91
Figura 52 - Categorias de funções biológicas enriquecidas nos animais de três meses. A, C e E: distribuição de todas as categorias. B, D e F: distribuição das categorias sem contar as funções do sistema imune e inflamação.....	93
Figura 53 - Categorias de funções biológicas enriquecidas nos animais de seis meses. A, C e E: distribuição de todas as categorias. B, D e F: distribuição das categorias sem contar as funções do sistema imune e inflamação.....	95

Figura 54 - Diagrama de Venn com o número de genes diferencialmente expressos nas três idades da linhagem <i>Dmd^{mdx}</i>	96
Figura 55 - Diagrama de Venn com o número de genes diferencialmente expressos nas três idades da linhagem <i>Large^{myd^{-/-}}</i>	96
Figura 56 - Diagrama de Venn com o número de genes diferencialmente expressos nas três idades da linhagem <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}</i>	97
Figura 57 - Rede mais significativa do camundongo <i>Dmd^{mdx}</i> com 21 dias. <i>Score</i> : 61; 33 genes selecionados. Categorias envolvidas: Ciclo celular; Organização celular; Replicação, recombinação e reparo de DNA	98
Figura 58 - Rede mais significativa do camundongo <i>Dmd^{mdx}</i> com 3 meses. <i>Score</i> : 29; 12 genes selecionados. Categorias envolvidas: Sinalização e interação célula-célula; Desenvolvimento e função do sistema hematológico; Tráfego de células imunes	99
Figura 59 - Rede mais significativa do camundongo <i>Dmd^{mdx}</i> com 6 meses. <i>Score</i> : 37; 18 genes selecionados. Categorias envolvidas: Metabolismo de lipídio; Transporte molecular; Bioquímica de moléculas pequenas.....	100
Figura 60 - Rede mais significativa do camundongo <i>Large^{myd^{-/-}}</i> com 21 dias. <i>Score</i> : 7; 3 genes selecionados. Categorias envolvidas: Morfologia tecidual; Desenvolvimento celular; Desenvolvimento e função do sistema hematológico	101
Figura 61 - Rede mais significativa do camundongo <i>Large^{myd^{-/-}}</i> com 3 meses. <i>Score</i> : 10; 4 genes selecionados. Categorias envolvidas: Desenvolvimento e função do tecido conectivo; Morfologia tecidual; Morte e sobrevivência celular	102
Figura 62 - Rede mais significativa do camundongo <i>Large^{myd^{-/-}}</i> com 6 meses. <i>Score</i> : 62; 26 genes selecionados. Categorias envolvidas: Doença metabólica; Resposta inflamatória; Doenças do tecido conectivo.....	103
Figura 63 - Rede mais significativa do camundongo <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}</i> com 21 dias. <i>Score</i> : 15; 4 genes selecionados. Categorias envolvidas: Sobrevivência e morte celular; Desenvolvimento celular; Morfologia de tumores	104
Figura 64 - Rede mais significativa do camundongo <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}</i> com 3 meses. <i>Score</i> : 31; 72 genes selecionados. Categorias envolvidas: Movimento celular; Desenvolvimento embrionário; Desenvolvimento e função do sistema nervoso	105
Figura 65 - Rede mais significativa do camundongo <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}</i> com 6 meses. <i>Score</i> : 32; 14 genes selecionados. Categorias envolvidas: Desenvolvimento embrionário; Desenvolvimento e função do sistema nervoso, Desenvolvimento do órgão.....	106
Figura 66 - Diagrama de Venn reunindo todos os genes diferencialmente expressos nas três idades de cada linhagem. No centro estão os genes compartilhados por todas as linhagens e idades. Em destaque o único gene com expressão diferencial apenas na linhagem <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}</i>	107

Figura 67 - Rede mais significativa do camundongo <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> com 21 dias. <i>Score</i> : 45; 21 genes selecionados. Categorias envolvidas: Movimento celular; Desenvolvimento e função do sistema hematológico; Tráfego de células imunes.....	112
Figura 68 - Segunda rede mais significativa do camundongo <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> com 21 dias. <i>Score</i> : 33; 17 genes selecionados. Categorias envolvidas: Doença do desenvolvimento; Doença hereditária; Doenças esqueléticas e musculares	113
Figura 69 - Rede mais significativa do camundongo <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> com 3 meses. <i>Score</i> : 47; 27 genes selecionados. Categorias envolvidas: Doença cardiovascular; Doença neurológica; Doença hereditária	114
Figura 70 - Segunda rede mais significativa do camundongo <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> com 3 meses. <i>Score</i> : 40; 24 genes selecionados. Categorias envolvidas: Desenvolvimento e função do sistema hematológico; Resposta inflamatória; Morfologia tecidual.....	115
Figura 71 - Rede mais significativa do camundongo <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> com 6 meses. <i>Score</i> : 50; 29 genes selecionados. Categorias envolvidas: Resposta inflamatória; Movimento celular; Tráfego de células imunes.....	116
Figura 72 - Segunda rede mais significativa do camundongo <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> com 6 meses. <i>Score</i> : 41; 24 genes selecionados. Categorias envolvidas: Desenvolvimento e função do sistema hematológico; Morfologia tecidual; Desenvolvimento celular.....	117
Figura 73 - Quantificações relativas dos genes estudados nas amostras de 21 dias	118
Figura 74 - Quantificações relativas dos genes estudados nas amostras de 3 meses	118
Figura 75 - Quantificações relativas dos genes estudados nas amostras de 6 meses	119
Figura 76 - Histologia do músculo gastrocnêmio dos animais <i>Dmd^{mdx}</i> e <i>Large^{myd-/-}</i> . Coloração de hematoxilina-eosina; aumento 10X	123

Lista de tabelas

Tabela 1 - Reagentes da reação da primeira fita de cDNA	43
Tabela 2 - Reagentes da reação da segunda fita de cDNA	44
Tabela 3 - Reagentes da reação de cRNA	44
Tabela 4 - Reagentes da purificação de cRNA	44
Tabela 5 - Reagentes da reação do segundo ciclo de cDNA	45
Tabela 6 - Reagentes da purificação de cDNA	46
Tabela 7 - Reagentes da reação de fragmentação do ss-cDNA	47
Tabela 8 - Reagentes de marcação do cDNA	47
Tabela 9 - Reagentes da reação de hibridização	48
Tabela 10 - Amostras usadas na validação dos genes por PCR em tempo real	50
Tabela 11 - Genes escolhidos para a validação e respectivos pares de <i>primers</i>	50
Tabela 12 - Reagentes e condições da reação de PCR em tempo real	51
Tabela 13 - Identificação das amostras utilizadas; quantificação do RNA e razão A_{260}/A_{280}	52
Tabela 14 - Quantificação do cRNA das amostras do grupo de animais com 21 dias	58
Tabela 15 - Quantificação do cRNA das amostras do grupo de animais com 3 meses	59
Tabela 16 - Quantificação do cRNA das amostras do grupo de animais com 6 meses	59
Tabela 17 - Quantificação do cDNA das amostras do grupo de animais com 21 dias	59
Tabela 18 - Quantificação do cDNA das amostras do grupo de animais com 3 meses	60
Tabela 19 - Quantificação do cDNA das amostras do grupo de animais com 6 meses	60
Tabela 20 - Totais de genes diferencialmente expressos em cada comparação e idade	74
Tabela 21 - Totais de genes diferencialmente expressos após a anotação. Em vermelho, os genes superexpressos; em verde, os genes subexpressos	74
Tabela 22 - Número de genes diferencialmente expressos com expressão no tecido muscular. Em vermelho, os genes superexpressos; em verde, os genes subexpressos	76
Tabela 23 - Proporção de genes do tecido muscular em relação ao total de genes	76
Tabela 24 - 31 genes com expressão diferencial em todas as linhagens e idades	78
Tabela 25 - 17 genes com expressão diferencial em todas as linhagens somente na idade de 21 dias	79
Tabela 26 - 11 genes com expressão diferencial em todas as linhagens somente na idade de 3 meses	80
Tabela 27 - 55 genes com expressão diferencial em todas as linhagens somente na idade de 6 meses	81
Tabela 28 - Vias biológicas <i>Dmd^{mdx}</i> vs <i>C57BL</i> 21 dias	83
Tabela 29 - Vias biológicas <i>Large^{myd/-}</i> vs <i>C57BL</i> 21 dias	85
Tabela 30 - Vias biológicas <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}</i> vs <i>C57BL</i> 21 dias	85
Tabela 31 - Vias biológicas <i>Dmd^{mdx}</i> vs <i>C57BL</i> 3 meses	85
Tabela 32 - Vias biológicas <i>Large^{myd/-}</i> vs <i>C57BL</i> 3 meses	86

Tabela 33 - Vias biológicas <i>C57BL</i> vs <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}</i> 3 meses	86
Tabela 34 - Vias biológicas <i>Dmd^{mdx}</i> vs <i>C57BL</i> 6 meses	87
Tabela 35 - Vias biológicas <i>Large^{myd^{-/-}}</i> vs <i>C57BL</i> 6 meses.....	88
Tabela 36 - Vias biológicas <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}</i> vs <i>C57BL</i> 6 meses	89
Tabela 37 - Número de genes diferencialmente expressos nas comparações do duplo-mutante com as linhagens parentais	107
Tabela 38 - Comparações do duplo-mutante com as linhagens parentais. Totais de genes diferencialmente expressos após a anotação. Em vermelho, os genes superexpressos; em verde, os genes subexpressos	107
Tabela 39 - Genes compartilhados com a linhagem <i>Large^{myd^{-/-}}</i>	108
Tabela 40 - Genes compartilhados com a linhagem <i>Dmd^{mdx}</i>	108
Tabela 41 - Categorias biológicas enriquecidas na linhagem <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}</i> com 21 dias de idade. 97 genes diferencialmente expressos foram utilizados nessa análise	109
Tabela 42 - Categorias biológicas enriquecidas na linhagem <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}</i> com 3 meses de idade. 280 genes diferencialmente expressos foram utilizados nessa análise	110
Tabela 43 - Categorias biológicas enriquecidas na linhagem <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}</i> com 6 meses de idade. 283 genes diferencialmente expressos foram utilizados nessa análise	110
Tabela 44 - Principais redes gênicas formadas com os genes diferencialmente expressos no <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}</i> com 21 dias	111
Tabela 45 - Principais redes gênicas formadas com os genes diferencialmente expressos no <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}</i> com 3 meses.....	113
Tabela 46 - Principais redes gênicas formadas com os genes diferencialmente expressos no <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}</i> com 6 meses.....	115
Tabela 47 - Resumo dos trabalhos publicados sobre a expressão gênica global do <i>Dmd^{mdx}</i> ...	122

Sumário

Resumo	18
Abstract.....	19
Introdução.....	20
1. O tecido muscular - desenvolvimento e organização.....	20
1.1. Desenvolvimento embrionário e organização.....	20
1.2. Proteínas e complexos proteicos musculares.....	22
2. Distrofias musculares.....	24
2.1. Distrofia muscular de Duchenne.....	24
2.2. Distroglicanopatias.....	25
3. Mecanismos moleculares subjacentes às distrofias musculares.....	26
3.1. Hipótese mecânica.....	26
3.2. Desequilíbrio na homeostase do cálcio.....	26
3.3. Estresse oxidativo.....	27
3.4. Reparo de membrana defeituoso.....	28
3.5. Esgotamento da capacidade regenerativa.....	28
3.6. Papel sinalizador do DGA.....	29
3.7. Regulação gênica.....	29
4. Modelos animais.....	29
4.1. Dmd ^{mdx}	29
4.2. Large ^{myd/-}	30
4.3. Dmd ^{mdx} /Large ^{myd/-}	31
5. Estudos de expressão gênica global.....	32
Objetivos.....	39
1. Objetivos específicos.....	39
Metodologia.....	40
1. Camundongos.....	40
1.1. Linhagens.....	40
1.2. Genotipagem dos camundongos Large ^{myd/-} e Dmd ^{mdx} /Large ^{myd/-}	40
2. Extração e controle de qualidade de RNA.....	41
3. Microarranjos.....	41
3.1. Preparação do RNA controle e RNA total.....	42
3.2. Síntese da primeira fita de cDNA.....	43
3.3. Síntese da segunda fita de cDNA.....	43
3.4. Síntese de cRNA por transcrição <i>in vitro</i>	44
3.5. Purificação de cRNA.....	44
3.6. Rendimento do cRNA.....	45
3.7. Síntese do segundo ciclo de cDNA.....	45
3.8. Hidrólise com RNase H.....	45
3.9. Purificação do cDNA do segundo ciclo.....	46
3.10. Rendimento do cDNA.....	46
3.11. Fragmentação.....	46
3.12. Marcação do cDNA.....	47
3.13. Hibridização.....	47
3.14. Lavagem e marcação.....	48
3.15. Escaneamento.....	48
4. Controle de qualidade dos dados.....	48
4.1. Imagem.....	48
4.2. Controles positivos.....	48
5. Análise dos dados.....	49
5.1. Pré-processamento dos dados.....	49
5.2. Triagem dos genes diferencialmente expressos.....	49
5.3. Análise funcional dos genes diferencialmente expressos.....	49
6. Validação dos dados por PCR em tempo real - quantificação relativa.....	50

Resultados.....	52
1. Coleta da amostra.....	52
2. Extração e controle de qualidade de RNA.....	52
3. Controle de qualidade dos microarranjos e pré-análise.....	58
3.1. Síntese de cRNA e cDNA, fragmentação e hibridização.....	58
4. Pré-análise dos dados de expressão.....	62
4.1. Controle de qualidade - métricas das sondas.....	62
4.2. Distribuição dos sinais e normalização.....	67
5. Triagem dos genes diferencialmente expressos.....	70
5.1. Número total de genes diferencialmente expressos.....	70
5.2. Classificação dos genes quanto ao aumento ou redução da expressão (em relação ao controle).....	74
5.3. Genes diferencialmente expressos - análise de genes de tecido muscular.....	75
6. Caracterização do processo distrófico.....	77
6.1. Genes diferencialmente expressos em todos os modelos distróficos e em todas as idades.....	77
6.2. Genes diferencialmente expressos em cada idade - Efeito da idade.....	79
6.3. Classificação funcional.....	83
6.3.1. Análise de vias enriquecidas.....	83
6.3.2. Anotação funcional dos genes de acordo com o Gene Ontology.....	90
7. Caracterização do perfil de cada linhagem.....	96
7.1. Análise do número de genes diferencialmente expressos - evolução de cada linhagem.....	96
7.2. Redes gênicas - genes exclusivos de cada linhagem.....	97
8. Caracterização da linhagem <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}</i> - Comparação com suas linhagens parentais.....	107
8.1. IPA - Análise funcional do <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}</i>	109
8.2. Redes funcionais com todos os genes.....	111
9. Validação do perfil de expressão por PCR em tempo real quantitativo.....	118
Discussão.....	120
1. Metodologia.....	120
1.1. Coleta da amostra; extração e controle de qualidade de RNA.....	120
1.2. Controle de qualidade dos microarranjos e pré-análise.....	121
2. Triagem dos genes diferencialmente expressos.....	121
2.1. Número total de genes diferencialmente expressos.....	121
2.2. Genes diferencialmente expressos - Tecido muscular.....	123
3. Caracterização do processo distrófico.....	124
3.1. GDEs comuns em todas as linhagens distróficas.....	124
3.2. Genes diferencialmente expressos em cada idade - Efeito da idade.....	129
3.3. Classificação funcional dos genes diferencialmente expressos.....	131
3.3.1. Enriquecimento de vias biológicas - KEGG Pathways.....	131
3.3.2. Enriquecimento de funções biológicas.....	131
4. Caracterização do perfil de cada linhagem.....	139
4.1. Análise do número de genes diferencialmente expressos - efeito da idade na evolução de cada linhagem.....	139
4.2. Redes gênicas - o que está diferente em cada linhagem em relação às demais, na mesma idade?.....	139
5. Caracterização do modelo <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}</i>	142
5.1. Comparações com as linhagens parentais.....	142
5.2. Análise e redes funcionais (IPA) do <i>Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}</i>	144
6. Validação do perfil de expressão por PCR em tempo real quantitativo.....	145
Conclusões.....	146
Referências bibliográficas.....	148
Anexos.....	160

Resumo

As distrofias musculares formam um grupo amplo e heterogêneo de doenças genéticas, caracterizado basicamente pela degeneração e fraqueza muscular progressivas. Ao longo das últimas décadas muitos estudos vêm sendo realizados para a identificação dos genes envolvidos nessas doenças. Entretanto, apesar da identificação da mutação responsável pela grande maioria das formas descritas, os processos moleculares subjacentes ao defeito genético primário são muito complexos e ainda precisam ser melhor compreendidos. E a compreensão dos mecanismos de cada uma das formas é muito importante para o desenvolvimento adequado de terapias.

A avaliação da expressão gênica global por microarranjos de DNA é uma ferramenta bastante poderosa, capaz de produzir uma grande quantidade de dados, delineando o panorama geral do estado do transcriptoma de um determinado tecido ou célula. Assim, os objetivos desse trabalho foram estudar os perfis de expressão do músculo de três linhagens de camundongos modelos de formas distintas de distrofia muscular (*Dmd^{mdx}*, *Large^{myd-/-}* e *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}*) em diferentes fases da progressão da doença (21 dias, três meses e seis meses de idade), com o intuito de caracterizar o processo distrófico e como o perfil de expressão varia com a progressão da idade e a depender da mutação genética.

Em cada um dos modelos e idades estudados identificamos um grande número de genes diferencialmente expressos (GDEs), refletindo a complexidade dessas doenças. A análise dos processos e vias biológicas nas quais esses genes estão envolvidos mostrou o forte envolvimento de componentes do sistema imunológico e inflamação, e também de genes relacionados com os processos de degeneração/regeneração e remodelamento da matriz extracelular. De modo geral, as funções biológicas alteradas são bem semelhantes entre as linhagens, sugerindo que apesar de as mutações serem em genes distintos, com funções diferentes, os processos moleculares que são afetados em decorrência dessas mutações são praticamente os mesmos. As maiores diferenças foram vistas na idade de 21 dias, especialmente na linhagem *Dmd^{mdx}* que apresentou uma grande quantidade de GDEs, dos quais grande parte relacionada com a maior capacidade regenerativa dessa linhagem e, assim, são genes que podem explicar o porquê desses animais apresentarem um fenótipo benigno em relação aos pacientes humanos.

A caracterização do modelo duplo-mutante *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* mostrou que a junção das duas mutações não ocasiona alterações no transcriptoma distintas das observadas nas linhagens parentais, sendo que o perfil do duplo-mutante é mais próximo ao de seu parental *Large^{myd-/-}*, não apresentando a mesma capacidade regenerativa que o *Dmd^{mdx}*.

Abstract

The muscular dystrophies form a large and heterogeneous group of genetic diseases, characterized mainly by progressive muscular degeneration and weakness. In the last decades, many studies have been carried on in order to identify the involved genes in these disorders. However, despite the identification of responsible mutations of the majority of the described forms, the underlying molecular processes to the primary mutation are very complex and are not fully understood. And to understand the mechanisms of each form is of major importance to the development of therapies.

Global gene expression profiling by DNA microarrays is a powerful tool, able to yield a huge quantity of data, outlining the general landscape of the transcriptome of a given tissue or cell. In this sense, the objectives of this work were to study the expression profile of the muscles from three mice lineages, models for different forms of muscular dystrophy (*Dmd^{mdx}*, *Large^{myd/-}* and *Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}*) in different phases of disease progression (21-day-old, three-month-old and six-month-old), in order to characterize the dystrophic process and how the expression profile changes according to aging and depending on the genetic mutation.

In each model and age studied we identified a substantial number of differentially expressed genes (DEGs), reflecting the diseases' complexity. The analysis of the biological processes and pathways in which these genes are implicated showed a strong involvement of immune system and inflammation components, and also genes related to degeneration/regeneration and extracellular matrix remodeling processes. Altogether, the altered biologic functions are very similar in lineages, suggesting that although mutations are in different genes, with diverse functions, the affected molecular processes due to these mutations are basically the same. The most notable differences were seen on 21-day-old, especially on *Dmd^{mdx}* lineage that showed a great quantity of DEGs, many of which are related to the better regenerative capacity this lineage exhibits and, thus, they are genes that could explain why these animals manifest a mild phenotype in comparison to human patients.

The characterization of the double mutant *Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}* showed that the union of both mutations does not bring on alterations on the transcriptome different from those seen in the parental lineages, with the double mutant profile closer to its parental *Large^{myd/-}*, not bearing the same regenerative capacity that *Dmd^{mdx}*.

Introdução

As afecções neuromusculares humanas constituem um grupo heterogêneo de doenças genéticas caracterizadas por degeneração muscular progressiva, levando ao desenvolvimento de fraqueza muscular e perda de capacidade motora. Na última década, foram identificadas mutações em vários genes, que resultam na deficiência ou perda de função de diversas proteínas musculares de importância significativa para o bom funcionamento do músculo. A fraqueza muscular observada nos pacientes resulta do desequilíbrio entre ciclos de degeneração e regeneração. O rompimento das miofibrilas do sarcolema leva à ativação de células mononucleadas inflamatórias e de células-satélite, que induzem a regeneração muscular, porém com capacidade limitada que se esgota ao longo de um processo contínuo de degeneração do músculo.

Portanto, analisar a função de genes diferencialmente expressos no fenótipo distrófico em camundongos modelos para diferentes formas de distrofias musculares, em diferentes fases da progressão da doença, pode contribuir para um melhor entendimento dos processos patológicos nesses animais.

1. O tecido muscular - desenvolvimento e organização

O músculo esquelético é um órgão altamente organizado e especializado, responsável pela locomoção e geração de energia nos organismos multicelulares.

1.1. Desenvolvimento embrionário e organização

O desenvolvimento do músculo esquelético pode ser dividido nos seguintes estágios principais: determinação do destino celular (formação de mioblastos); proliferação de mioblastos; alinhamento e fusão de mioblastos; formação de miotubos; maturação dos miotubos e formação da fibra muscular. Cada etapa é especificamente regulada por fatores moleculares, de modo bastante ordenado (Parker, Seale e Rudnicki, 2003).

Os mioblastos têm sua origem nos somitos do embrião, que são condensações transitórias de mesoderme paraxial em cada lado do tubo neural e da notocorda (Buckingham, 2001; 2006). Os fatores de regulação miogênica (MRFs) - MyoD, Myf5, miogenina e Myf6 - têm um papel bem definido na coordenação do desenvolvimento e diferenciação da musculatura esquelética, ligando-se a uma sequência consenso encontrada nos promotores de muitos genes específicos do músculo (Brand-Saberi e Christ, 1999). Uma vez que o fator de transcrição Pax3, junto com os fatores MyoD e Myf5 determinaram a identidade e proliferação dos mioblastos, estes se fundem e se diferenciam para formar os miotubos (células multinucleadas imaturas) e as miofibras

(células musculares completamente diferenciadas), sob a ação dos fatores miogenina e Myf6 (Parker, Seale e Rudnicki, 2003) (Figura 1).

Figura 1 - Etapas da diferenciação miogênica. Extraído de Almeida C F, Ayub-Guerrieri D, Vainzof M. Myogenic differentiation of ES cells for therapies in neuromuscular diseases: progress to date. In: Kallos MS, editor. Embryonic stem cells - differentiation and pluripotent alternatives. 2011. p. 227-242.

Quando sofre algum dano, o processo da miogênese também ocorre no músculo adulto. A regeneração ocorre pela ativação e diferenciação de células-tronco musculares, principalmente as células-satélite, que estão localizadas entre a lâmina basal e o sarcolema, em estado quiescente. Essas células são necessárias para o crescimento, a manutenção e a regeneração do músculo adulto. A diferenciação das células-satélite para a formação e/ou reparo de novas miofibras é regulada de maneira muito semelhante ao que ocorre nos estágios embrionários, também pela ação dos MRFs. Entretanto, existem algumas diferenças, como a necessidade da expressão de Pax7 nas células-satélite, que não é observada na embriogênese (Wang e Rudnicki, 2012) (Figura 2).

Figura 2 - Miogênese no tecido adulto. Extraído de Almeida C F, Ayub-Guerrieri D, Vainzof M. Myogenic differentiation of ES cells for therapies in neuromuscular diseases: progress to date. In: Kallos MS, editor. Embryonic stem cells - differentiation and pluripotent alternatives. 2011. p. 227-242.

A fusão e diferenciação dos mioblastos formam a miofibrila, uma estrutura tubular, alongada e multinucleada. O músculo esquelético adulto é constituído por feixes de miofibrilas (ou fibras musculares), que contêm uma série de filamentos proteicos, as

miofibrilas. Tais filamentos são formados por proteínas contráteis, que formam o sarcômero, a unidade contrátil do músculo. O sarcômero é um segmento da miofibrila, delimitado por duas linhas Z (onde se ancoram os filamentos de actina, e as proteínas titina e nebulina), contendo uma banda A (sobreposição de actina e miosina), que separa duas semibandas I, formadas apenas por actina. Na banda H há apenas miosina (Junqueira e Carneiro, 2009; (Clark *et al.*, 2002) (Figura 3).

Figura 3 - Organização do músculo esquelético. Modificado de <http://imgarcade.com/1/cardiac-tissue-diagram/>

As miofibrilas estão envolvidas pela rede do retículo sarcoplasmático, que desempenha as funções de transporte e armazenamento, regulando o fluxo de íons cálcio, necessários para a contração muscular. No momento da contração muscular, ocorre uma mudança conformacional na miosina que desliza sobre os filamentos de actina, levando ao encurtamento do sarcômero, devido à sobreposição dos filamentos contráteis, bem como da fibra muscular inteira (Junqueira e Carneiro, 2009).

1.2. *Proteínas e complexos proteicos musculares*

A membrana da célula muscular possui uma série de proteínas que fazem a conexão entre o citoesqueleto de actina e a matriz extracelular (Ervasti e Campbell, 1993). Essa ligação fornece estabilidade à fibra e também permite a transmissão de força durante a contração muscular. Todas essas proteínas constituem o complexo distrofina-glicoproteínas associadas (DGA) (Figura 4).

Figura 4 - Complexo distrofina-glicoproteínas associadas. Extraído de Kay E Davies & Kristen J Nowak *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 7, 762-773 (October 2006)

Esse complexo é composto pelo complexo distroglicano, formado pela proteína β -distroglicana que ancora uma proteína extracelular altamente glicosilada, α -distroglicana (Ibraghimov-Beskrovnaya *et al.*, 1992; Yoshida *et al.*, 1994), além de outras proteínas descritas mais adiante. Dentro do complexo DGA, a α -distroglicana se conecta a proteínas da matriz extracelular, incluindo a laminina 211, enquanto que o domínio intracelular da β -distroglicana interage com a distrofina (Suzuki *et al.*, 1992; Ervasti e Campbell, 1993; Gee *et al.*, 1993). Assim, o complexo distroglicano é central na ligação entre o citoesqueleto intracelular e a matriz extracelular, o que é importante para proteger a miofibrila do estresse mecânico da contração muscular.

Além da ligação com a distrofina e a laminina, foi recentemente mostrado que o complexo distroglicano também interage com outras proteínas fora do complexo DGA, o que implica em mais funções deste subcomplexo no músculo e no mecanismo de doenças (Johnson *et al.*, 2013).

No citoplasma, a proteína distrofina se liga aos filamentos de actina por seu domínio N-terminal (Way *et al.*, 1992); o seu domínio C-terminal está ligado à proteína integrante de membrana β -distroglicana e às proteínas distrobrevina, sintrofina e à enzima óxido nítrico sintase (nNOS) (Campbell e Kahl, 1989; Suzuki *et al.*, 1992; Sadoulet-Puccio, Rajala e Kunkel, 1997).

Na membrana do músculo esquelético o complexo de sarcoglicanas é composto por quatro membros (α -, β -, γ - e δ -sarcoglicana) e tem importância para a estabilização da membrana, uma vez que mutações nos genes dessas proteínas são a causa de algumas

formas de distrofia muscular de cinturas (Vainzof e Zatz, 2003; Allikian e McNally, 2007). Na ausência de apenas uma sarcoglicana, há uma perda secundária das demais; na deficiência de distrofina também ocorre a perda secundária de todo o complexo de sarcoglicanas (Vainzof e Zatz, 2003).

O rompimento da conexão citoplasma–membrana–matriz e/ou a perda de alguma das proteínas do complexo torna o sarcolema instável, aumentando a suscetibilidade da fibra muscular à morte celular, o principal evento das distrofias musculares.

2. Distrofias musculares

O termo distrofia muscular abrange um grupo clínica, genética e bioquimicamente heterogêneo de doenças hereditárias caracterizadas pela degeneração muscular progressiva e fraqueza muscular (Emery, 2002; Flanigan, 2012). Histologicamente, a maioria das distrofias tem em comum degeneração das fibras musculares com a posterior substituição do tecido muscular por fibrose e tecido adiposo.

A classificação dessas doenças tem sido feita, historicamente, de acordo com os principais aspectos clínicos e a idade de início de manifestação. Há ainda a subclassificação de grupos heterogêneos (por exemplo, as distrofias musculares de cinturas e as distrofias musculares congênitas). Entretanto, os avanços na identificação das mutações causadoras e na compreensão dos mecanismos patológicos têm mostrado que a classificação nem sempre pode ser feita baseando-se apenas nos aspectos clínicos; fenótipos semelhantes são frequentemente associados a mutações em diferentes genes, mas que compartilham funções similares. Atualmente, mais de 50 formas já foram descritas, porém algumas ainda não foram associadas a um gene específico (Mercuri e Muntoni, 2013).

As mutações causadoras das distrofias musculares ocorrem em um amplo conjunto de proteínas, sejam elas estruturais ou enzimas que fazem modificações pós-traducionais nessas proteínas; a localização dessas proteínas também é variável: matriz extracelular, sarcolema, sarcoplasma e membrana nuclear. Essas mutações comprometem a integridade da célula muscular levando ao desgaste progressivo da musculatura, acompanhado de uma série de consequências deteriorantes, incluindo a morte prematura (Rahimov e Kunkel, 2013).

2.1. Distrofia muscular de Duchenne

A distrofia muscular de Duchenne (DMD) é a forma mais comum dentre as distrofias musculares, e afeta aproximadamente um a cada 3500 meninos nascidos vivos. Foi descrita pela primeira vez pelo médico inglês Edward Meryon, em 1851, mas a doença

só foi realmente reconhecida pela comunidade médica quando o médico francês Guillaume Duchenne fez uma descrição mais detalhada e profunda da patologia (Emery, 2002).

Essa forma de distrofia muscular é devida a mutações no gene *DMD* localizado no braço curto do cromossomo X, que codifica a proteína distrofina de 427 kD (Hoffman, Brown e Kunkel, 1987; Koenig, Monaco e Kunkel, 1988). A distrofina é uma proteína intracelular com formato de bastão, localizada na região subsarcolemal. Pela sua porção N-terminal a distrofina se liga aos filamentos de actina do citoesqueleto; o domínio C-terminal interage com várias proteínas, formando o complexo distrofina-glicoproteínas-associadas (Ervasti *et al.*, 1990; Yoshida e Ozawa, 1990).

Os sintomas costumam aparecer entre os três e cinco anos de idade. Clinicamente, os pacientes com DMD apresentam atraso para começar a andar, fraqueza progressiva acompanhada de dificuldades para correr, subir escadas e pular, quedas frequentes e hipertrofia de panturrilha acentuada. A perda da ambulação ocorre por volta dos 10 anos de idade e a morte geralmente antes do final da segunda década de vida devido a problemas respiratórios e cardíacos (Vainzof e Zatz, 2003).

2.2. *Distroglicanopatias*

A glicosilação da proteína α -distroglicana, membro importante do DGA, é crucial para a sua ligação com a laminina e a fosforilação da β -distroglicana regula a sua associação a ligantes intracelulares (Moore e Winder, 2012). A integridade dessa conexão é mantida e regulada por modificações pós-traducionais na distroglicana, o que tem efeitos tanto dentro quanto fora da célula.

A glicosilação anormal da proteína α -distroglicana caracteriza um grupo de distrofia muscular denominado distroglicanopatias, geralmente com padrão de herança autossômico recessivo e grande variabilidade clínica (Moore e Hewitt, 2009). Essas doenças têm em comum a hipoglicosilação da α -distroglicana o que leva a diminuição da ligação com a laminina e uma redução da função do eixo laminina-distroglicana (Muntoni *et al.*, 2002).

A glicosilação da α -distroglicana é feita por diversas enzimas. Mutações nos genes das glicosiltransferases *POMT1* (Beltrán-Valero De Bernabé *et al.*, 2002), *POMT2* (Van Reeuwijk *et al.*, 2005), *POMGnT1* (Yoshida *et al.*, 2001), *FCMD* (Toda e Kobayashi, 1999), *FKRP* (Brockington *et al.*, 2001), *LARGE* (Longman *et al.*, 2003) dentre outros, são responsáveis por um amplo espectro de fenótipos clínicos, de menor ou maior gravidade, incluindo a síndrome de Walker-Warburg, a *muscle-eye-brain disease*, a distrofia muscular de Fukuyama, formas de distrofias musculares congênitas e a distrofias musculares de cintura tipo 2.

3. Mecanismos moleculares e celulares subjacentes às distrofias musculares

As distrofias musculares são doenças monogênicas, entretanto a patologia resultante é complexa, podendo afetar outros órgãos além dos músculos, o que sugere um rompimento muito mais amplo da homeostase do que poderia ser predito pelo defeito em um único gene. Assim, torna-se importante o estudo dos mecanismos moleculares e celulares subjacentes ao defeito primário, e que são desencadeados devido ao processo de degeneração muscular.

Nas patologias causadas pela deficiência de distrofina, esses mecanismos são mais bem explorados e estudados, porém ainda não são completamente compreendidos. Para os defeitos de glicosilação há menos estudos ainda.

Há diversas hipóteses envolvidas no mecanismo de degeneração muscular e algumas serão apresentadas a seguir.

3.1. Hipótese mecânica

Uma característica clássica das distrofias musculares é a elevação do nível plasmático da enzima creatina quinase muscular, o que sugere que há uma maior permeabilidade da membrana, permitindo o extravasamento dessa enzima da fibra muscular para a corrente sanguínea. Além disso, diversos estudos já demonstraram uma maior permeabilidade do sarcolema do músculo distrófico pela absorção de corantes, como o *Evans Blue* (Matsuda, Nishikawa e Tanaka, 1995).

A hipótese mais recorrente para explicar a degeneração nas distrofias musculares atribui às mutações em genes de proteínas com função estrutural, como a distrofina, a falha no músculo que afetaria a estabilidade mecânica da fibra e de sua membrana (Petrof *et al.*, 1993). A perda da conexão entre o citoesqueleto, a membrana e a matriz deixa a membrana mais frágil, o que exacerbaria o dano provocado normalmente pela contração muscular, dando início a uma série de eventos que culminam na morte celular (Wallace e McNally, 2009; Gumerson e Michele, 2011).

Entretanto, também é possível que as mutações alterem a homeostase do músculo em repouso ou ainda interfiram na habilidade do músculo de se adaptar e se recuperar após um ciclo normal de dano.

3.2. Desequilíbrio na homeostase do cálcio

Aumento no nível de cálcio intracelular em músculos distróficos já é um fato conhecido e bem documentado (Mallouk, Jacquemond e Allard, 2000). Porém, os mecanismos responsáveis por esse aumento ainda não são bem esclarecidos. Os estudos

mais iniciais apontavam que o cálcio entraria na célula através de pequenas lesões na membrana (Turner *et al.*, 1988), hipótese compatível com as observações de que o sarcolema do músculo é mais frágil e suscetível a rupturas. Outros estudos sugerem que canais de cálcio estariam mais ativos nessa condição (Allen e Whitehead, 2011).

Outros trabalhos indicam que o excesso de cálcio viria do próprio retículo sarcoplasmático, por alterações nos canais RyR1 como consequência de mudanças na sinalização do óxido nítrico (Bellinger *et al.*, 2009).

A despeito do mecanismo pelo qual ocorre, a comprovada elevação da concentração intracelular de cálcio pode resultar em danos celulares diversos que podem estar subjacentes aos efeitos observados no músculo distrófico. Acredita-se que níveis aumentados de cálcio prejudiquem a capacidade da célula de manter os níveis fisiológicos desse íon, levando à ativação de proteases dependentes de cálcio, como as calpaínas que clivam proteínas das miofibrilas (Alderton e Steinhardt, 2000).

O excesso de cálcio também afeta as mitocôndrias, aumentando a sua permeabilidade, o que pode desencadear em apoptose mediada pela mitocôndria, com liberação do citocromo c e ativação de caspases (Orrenius, Zhivotovsky e Nicotera, 2003).

3.3. *Estresse oxidativo*

A enzima óxido nítrico sintase neuronal (nNOS) está ligada à proteína sintrofina no complexo distrofina-glicoproteínas (DGA), porém, na ausência de distrofina essa enzima é deslocada para o citoplasma, reduzindo a produção do radical livre óxido nítrico (NO). O óxido nítrico é uma molécula bastante versátil que participa de uma série de processos no músculo e em outros tecidos: inflamação, proteólise, morte celular, formação e função de sinapses, metabolismo, função cardíaca e vasodilatação. Além disso, o NO está relacionado com a diminuição da produção de espécies reativas de oxigênio prejudiciais à célula. Dessa forma, é possível fazer uma relação direta das funções do NO com diversas consequências da distrofia muscular: inflamação, desgaste muscular, morte celular, deficiências na memória e aprendizado, cardiomiopatia, defeitos metabólicos, disfunção sináptica, e defeitos vasculares (Tidball e Wehling-Henricks, 2007).

Outro efeito do cálcio na mitocôndria é a produção de espécies reativas de oxigênio, que vão atuar na via do NF- κ B, que sinaliza para a via do TNF- α , para a ubiquitinação de proteínas e para a inflamação, contribuindo para o agravamento da degeneração muscular (Allen e Whitehead, 2011).

3.4. *Reparo de membrana defeituoso*

A membrana da célula de um músculo normal sofre constantemente com lesões devido à contração, mas, ao mesmo tempo, ela é capaz de repará-las por meio de um complexo sistema de reparo, mediado por uma série de proteínas. Entretanto, em alguns casos esse sistema pode estar prejudicado, como ocorre quando há mutações nos genes das proteínas disferlina, calpaína 3 e caveolina.

O modelo de reparo de membranas proposto sugere que um complexo formado pela disferlina e outras proteínas seja ativado por íons cálcio e recrute vesículas membranosas e as deposite no local da ruptura da membrana (Wallace e McNally, 2009; Rahimov e Kunkel, 2013).

Assim, a degeneração muscular não ocorreria pela desestruturação do complexo DGA, mas sim pela ineficiência em reparar a membrana danificada (Rahimov e Kunkel, 2013), mantendo as lesões abertas, permitindo um maior influxo de cálcio para dentro da célula, que em última instância desencadeia na degeneração muscular.

3.5. *Esgotamento da capacidade regenerativa*

Quando um dano à miofibrila tem maiores proporções, de forma que o sistema de reparo de membrana não seja capaz de promover a recuperação adequada da célula, ocorre a ativação das células-satélite, as células-tronco do tecido muscular. Contudo, nas distrofias musculares, o músculo não é capaz de se regenerar continuamente, visto que o resultado final dessas doenças é a perda de fibras musculares e substituição por outros tecidos, o que sugere que a regeneração pelas células-satélites não consegue superar as taxas de degeneração.

Algumas explicações são propostas a fim de se esclarecer essa regeneração ineficiente. A primeira delas trata da senescência precoce das células-satélite, devido aos repetidos ciclos de divisão e à ativação constante, o que levaria a um esgotamento do estoque dessas células. Em apoio a esta hipótese, já foi observado uma menor quantidade de células-satélite (Heslop, Morgan e Partridge, 2000) e encurtamento de telômeros (Decary *et al.*, 2000) em músculos distróficos, apesar de haver estudos contraditórios (Kottlors e Kirschner, 2010).

A segunda hipótese trata da capacidade de diferenciação e fusão das células-satélites, uma vez que elas também possuem a mutação causadora da doença, o que de alguma forma pode reduzir a sua eficiência em regenerar adequadamente o tecido, como já foi observado no camundongo *Large^{myd/-}* (Ross *et al.*, 2012). A produção reduzida de óxido nítrico também foi associada a alterações na proliferação e diferenciação das células-satélite (Anderson, 2000).

Por fim, o próprio microambiente distrófico, caracterizado por excesso de fibrose, dificultaria a migração, fusão e diferenciação apropriada das células-satélite.

3.6. *Papel sinalizador do complexo DGA*

Além do papel estrutural, associa-se ao complexo DGA uma função sinalizadora, especialmente relacionada com vias de sobrevivência celular. Diversas moléculas sinalizadoras já foram encontradas associadas com o complexo DGA, como a CaM kinase II, envolvida na via do PI3K de aumento de sobrevivência celular, dentre outras.

Os componentes do complexo DGA servem como pontos de ancoragem para complexos sinalizadores, em adição à função mecânica de estabilização da membrana. Consequentemente, a desestabilização e perda de componentes do complexo tem impacto em diversas vias de sinalização necessárias para a manutenção da célula. Isso explica, em partes, a maior suscetibilidade à morte de miofibras na distrofia muscular (Rando, 2001).

3.7. *Regulação gênica*

Algumas formas de distrofia são causadas por mutações em genes de proteínas nucleares, intimamente relacionadas com a cromatina. Isso teria implicações na expressão de uma série de genes, envolvidos em diversos processos, o que acarretaria em defeitos na apoptose e diferenciação muscular (Wallace e McNally, 2009).

4. **Modelos animais**

Na natureza já foram identificados diversos modelos animais, de diferentes espécies, para as mais variadas doenças humanas, incluindo as distrofias musculares. Além disso, também novos modelos podem ser desenvolvidos por manipulação genética. Esses animais servem como valiosas ferramentas para estudos genéticos, clínicos e histopatológicos, contribuindo para a melhor compreensão das patologias humanas e para testes terapêuticos.

4.1. *Dmd^{mdx}*

O camundongo *Dmd^{mdx}*, modelo natural para distrofia muscular de Duchenne, é o mais bem estudado e utilizado. Esse camundongo foi descrito pela primeira vez em 1984; ele apresenta deficiência total de distrofina devido a uma mutação de ponto no éxon 23 do gene *Dmd*, que resulta em um códon de parada prematuro (Bulfield *et al.*, 1984; Sicinski *et al.*, 1989).

Assim como os pacientes humanos, o músculo do camundongo *Dmd^{mdx}* tem características distróficas, como degeneração, necrose e substituição por fibrose. Entretanto, diferentemente dos humanos, os camundongos mutantes apresentam sinais clínicos moderados, tem uma taxa de regeneração muscular significativa, conseguem se reproduzir e tem expectativa de vida normal, de aproximadamente dois anos (Dangain e Vrbova, 1984).

No músculo do camundongo *Dmd^{mdx}*, apesar da deficiência de distrofina, é possível observar uma pequena porcentagem de miofibras distrofina-positivas, chamadas de fibras revertentes, vistas também em pacientes com DMD (Hoffman *et al.*, 1990; Danko, Chapman e Wolff, 1992). A presença de fibras revertentes não tem nenhum efeito no fenótipo clínico e os mecanismos de formação dessas fibras são pouco compreendidos. Recentemente, foi publicado um estudo que reforça a hipótese de que eventos epigenéticos envolvendo mecanismo de *splicing* recuperariam o quadro de leitura em algumas células-satélite; as fibras revertentes posteriores surgiriam por expansão clonal dessas primeiras fibras revertentes (Pigozzo *et al.*, 2013).

Dessa forma, o camundongo *Dmd^{mdx}* é um bom modelo genético e bioquímico, mas não é adequado em triagens terapêuticas. Por isso, a análise histológica do músculo diafragma, o mais afetado nesse animal, é mais frequentemente utilizada para a avaliação da evolução da doença, já que ele reproduz melhor as características degenerativas da distrofia muscular (Stedman *et al.*, 1991).

4.2. *Large^{myd/-}*

O camundongo *Large^{myd/-}* apresenta fenótipo de distrofia muscular devido a uma mutação no gene *Large* murino, herdada de forma autossômica recessiva; ele foi descrito pela primeira vez na década de 1970 (Lane, Beamer e Myers, 1976). Os animais homozigotos têm a marcha alterada, apresentam postura anormal quando suspensos pela cauda, são menores em comparação aos seus irmãos normais e têm expectativa de vida de aproximadamente 39 semanas. A concentração de creatina quinase é elevada e a histologia é típica de uma miopatia progressiva com variação no tamanho das fibras e focos de necrose e de regeneração (Grewal *et al.*, 2001; Reed *et al.*, 2004). Além das alterações no músculo esquelético, esse animal apresenta alterações cardíacas e defeitos no desenvolvimento do sistema nervoso central (Holzfeind *et al.*, 2002).

A mutação causativa do fenótipo do *Large^{myd}* é uma deleção de 379 pares de bases, correspondente aos éxons 5-7, no gene *Large*. Esta deleção causa uma mudança no quadro de leitura do mRNA, resultando em um códon de parada prematuro e, consequentemente, na perda dos domínios catalíticos da proteína (Grewal *et al.*, 2001;

Grewal e Hewitt, 2002). O gene *Large* codifica a enzima *like-glycosyltransferase* (LARGE), responsável por uma das etapas da glicosilação da proteína α -distroglicana (Hewitt, 2012; Inamori *et al.*, 2012). Por isso, esse camundongo é utilizado como modelo para as distroglicanopatias.

4.3. *Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}*

Como o camundongo *Dmd^{mdx}* apresenta um fenótipo brando de distrofia muscular, diversos duplo-mutantes com *background Dmd^{mdx}* têm sido desenvolvidos, a fim de se obter animais com associação de duas proteínas alteradas e com fenótipo mais grave.

Com o objetivo de avaliar os efeitos da hipoglicosilação na modulação do fenótipo distrófico e de estimar o impacto da ausência simultânea de distrofina e a enzima LARGE na formação do complexo DGA, foi desenvolvido em nosso laboratório, por cruzamentos mendelianos, um camundongo duplo-mutante para essas duas proteínas (Martins *et al.*, 2013).

Este novo modelo murino é viável, mas apresenta significativo atraso no crescimento e desenvolvimento, além de infertilidade por incapacidade de realizar a cópula. A taxa de mortalidade no período perinatal é elevada – apenas cerca de 15% dos animais afetados sobrevivem além das primeiras 24 horas. Esse animal mostra fraqueza muscular progressiva, mais grave que a observada nas linhagens parentais, com expectativa de vida reduzida, de no máximo 24 semanas (Martins *et al.*, 2013) (Figura 5).

Figura 5 - Animais duplo-mutantes em diferentes idades, comparados com o *Dmd^{mdx}*

Na análise histológica dos músculos do *Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}*, observa-se um padrão de degeneração similar ao visto no camundongo *Large^{myd/-}*; entretanto, nas idades de 21 dias e 180 dias, o duplo-mutante apresenta degeneração mais severa, incluindo aumento do endomísio e do perimísio, maior variação no tamanho da fibra, e uma proporção maior de núcleos centrais e fibras fendidas. Assim como o camundongo *Dmd^{mdx}*, o duplo-mutante também apresenta fibras revertentes, o que significa que a presença da mutação no gene *Large* não interfere na produção das mesmas. Além disso, o duplo também tem deficiência

secundária das sarcoglicanas, mostrando que há desestabilização no complexo DGA, o que não é visto na linhagem *Large^{myd/-}* (Martins *et al.*, 2013).

O camundongo *Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}* é o primeiro animal que combina ambos os defeitos genéticos de DMD e distroglicanopatias e oferece um significativo potencial para estudos sobre os mecanismos de desestabilização do complexo DGA. Além disso, esse modelo tem utilidade em estudos de terapia celular, pela facilidade de rastreamento de células seja por análise de DNA ou de proteínas (Martins *et al.*, 2013).

5. Estudos de expressão gênica global

Apesar do conhecimento dos defeitos genéticos primários das distrofias musculares, a patologia molecular que leva a degeneração muscular ainda necessita de maiores estudos. A análise em larga escala da expressão gênica permite acessar as vias moleculares que estejam alteradas no músculo distrófico. Neste sentido, o uso de microarranjos de DNA oferece uma ferramenta poderosa para a análise global da expressão gênica (Haslett e Kunkel, 2002). Com os avanços nas áreas da genômica e da proteômica, o desenvolvimento das abordagens terapêuticas está sendo cada vez mais baseado na compreensão da sinalização celular para se identificar alvos moleculares ligados à fisiopatologia. Estudar as vias de sinalização que possam estar perturbadas devido à falta de distrofina ou outros componentes do complexo pode ajudar a revelar prováveis pontos de intervenção terapêutica ou a identificação de biomarcadores da doença.

Microarranjos de DNA são lâminas formadas por micropontos de ácidos nucleicos ordenados e de alta densidade, cuja tecnologia permite a análise de expressão gênica simultânea e em larga escala, e tem sido empregada extensivamente no estudo molecular de patologias. Esta ferramenta possibilita uma compreensão global das diversas vias gênicas envolvidas tanto em doenças multigênicas como em doenças mendelianas, complementando os estudos clínicos e histológicos.

Os trabalhos publicados diferem em escala e na abordagem experimental e analítica, mas são concordantes na conclusão de que as vias moleculares encontradas refletem as características patológicas vistas na histologia. De modo geral, em todos os trabalhos, a maioria dos genes superexpressos é composta por genes ligados à resposta imune e à formação de matriz extracelular, o que condiz e corrobora os achados histológicos. O perfil de expressão gênica global, por *microarranjo* e outras técnicas, já foi estudado em pacientes com DMD (Chen *et al.*, 2000; Bakay *et al.*, 2002; Haslett *et al.*, 2002; Goetsch *et al.*, 2003; Haslett *et al.*, 2003; Noguchi *et al.*, 2003), e em camundongos *Dmd^{mdx}* (Tkatchenko *et al.*, 2000; Boer *et al.*, 2002; Porter *et al.*, 2002; Rouger *et al.*,

2002; Tseng *et al.*, 2002; Porter, Merriam, Khanna, *et al.*, 2003; Porter, Merriam, Leahy, *et al.*, 2003; Porter *et al.*, 2004; Turk *et al.*, 2005; Baban e Davies, 2008; Marotta *et al.*, 2009).

Alguns estudos anteriores ao uso da análise de genes diferencialmente expressos por microarranjos moleculares, já sugeriam resultados muito interessantes. Tkatchenko e colaboradores analisaram a expressão gênica nos músculos posteriores e do diafragma do camundongo *Dmd^{mdx}*. Foram identificados 93 genes diferencialmente expressos entre o animal normal e o afetado. Os genes foram divididos em grupos, de acordo com a função descrita: metabolismo energético, crescimento (*H19* e *Igf2*), diferenciação celular (*NF-κB*), homeostase de cálcio (*Ryr1*), degradação proteica, organização celular, biogênese, matriz extracelular (genes dos colágenos I, III e V), inflamação, ativação de macrófagos e genes desconhecidos. A expressão diferencial desses genes tem correlação com diversas observações já feitas nos camundongos, como a elevação do nível de cálcio intracelular e a formação de fibrose.

Dentre esses genes, destacou-se um grupo de genes codificando enzimas envolvidas no metabolismo energético, proliferação e diferenciação celular, e equilíbrio de cálcio cuja expressão foi claramente diferente entre o diafragma e os músculos posteriores do *Dmd^{mdx}*, indicando que esses aspectos da função muscular possam estar comprometidos no diafragma do *Dmd^{mdx}* (Tkatchenko *et al.*, 2000).

Posteriormente, estes mesmos autores identificaram sete genes com expressão alterada em pacientes com DMD com um arranjo de cDNA: a proteína sarcomérica titina, dois genes mitocondriais, um fator de transcrição muscular e três genes ainda desconhecidos. A superexpressão dos genes mitocondriais foi associada à redução na atividade de enzimas mitocondriais observada em pacientes com DMD, o que significaria uma tentativa de compensação para manter o equilíbrio das proteínas mitocondriais. A hipoeexpressão do gene da titina está relacionada com a desorganização do sarcômero e a fragilidade das miofibras desses pacientes (Tkatchenko *et al.*, 2001).

Em outro trabalho realizado por Chen e colaboradores foi encontrada, no músculo de pacientes com deficiência de distrofina e α-sarcoglicana, alta expressão de genes do desenvolvimento, o que poderia ser atribuído ao processo de regeneração, mas a expressão desses genes não estava limitada às fibras em regeneração, indicando uma diferenciação incompleta. A hipoeexpressão de genes da função mitocondrial e metabolismo energético apontam para uma crise metabólica generalizada e disfunção mitocondrial, provavelmente devido ao influxo constante de cálcio (Chen *et al.*, 2000).

Porter *et al.* (2002) identificaram 242 genes expressos diferencialmente nos músculos gastrocnêmio e *soleus* de camundongos *Dmd^{mdx}* com oito semanas de idade. Esses genes foram agrupados em categorias diretamente relevantes para a patogênese da

distrofia muscular: inflamação (30% dos genes), deposição de matriz extracelular (9%), proteólise (7%), regeneração muscular (7%) e metabolismo energético (2%). A superexpressão de 22 genes de matriz extracelular contrasta com o grau limitado de fibrose no animal *Dmd^{mdx}*, sugerindo a existência de algum mecanismo pós-transcricional compensador ou protetor nesses animais. O fato de 30% dos genes diferencialmente expressos serem implicados na resposta inflamatória indica uma reação inflamatória persistente no músculo do *Dmd^{mdx}* (Porter *et al.*, 2002).

Com o *chip* HG-U95Av2 da Affymetrix, foi confirmada a expressão diferencial de 42 genes do trabalho de Chen *et al.* (2000), e ainda foram identificados 63 genes não reportados previamente no músculo de pacientes com DMD. Como nos trabalhos anteriores, foi visto que há mais genes hiperexpressos em relação aos hipoexpressos, o que é atribuído ao aumento da renovação proteica e também a expressão contínua de genes de desenvolvimento muscular, devido ao processo de regeneração. Mais uma vez, genes relacionados com a resposta imune e a matriz extracelular apresentaram superexpressão, refletindo as características histopatológicas (infiltração de células inflamatórias e fibrose) dos músculos dos pacientes estudados (Haslett *et al.*, 2002).

Para complementar e expandir os dados obtidos no trabalho anterior, os mesmos autores estudaram o perfil de expressão gênica de pacientes com DMD utilizando outro conjunto de microarranjos com maior cobertura do genoma. Foram encontrados mais 51 genes e 124 ESTs diferencialmente expressos, confirmando o padrão de expressão encontrado anteriormente. Dos 144 genes identificados como diferencialmente expressos nos dois estudos, 46 são genes que codificam proteínas envolvidas em sinalização. Isso sugere que vias de sinalização estão alteradas no músculo dos pacientes DMD, reforçando o papel sinalizador do complexo DGA (Haslett *et al.*, 2003).

A análise do perfil de expressão global dos músculos dos membros posteriores de camundongos *Dmd^{mdx}* com 13 e 15 semanas de idade (fase de estabilização da regeneração muscular), usando os microarranjos U74Av2 da Affymetrix, revelou apenas 58 genes diferencialmente expressos (Boer *et al.*, 2002), em contraste com os 242 genes diferencialmente expressos na idade de oito semanas. Essa diferença se deve, provavelmente, ao fato de a fase mais ativa de regeneração já ter passado nos animais mais velhos. A maioria desses genes está implicada na regeneração muscular, resposta imune e proteólise. Entretanto, a inflamação, nessas idades, não é tão pronunciada quanto em animais mais jovens, como encontrado em Porter *et al.* (2002). Uma crise metabólica generalizada, como reportado para pacientes com DMD (Chen *et al.*, 2000), está ausente nesses animais.

O diafragma dos animais *Dmd^{mdx}* apresenta um processo de degeneração mais significativo do que ocorre nos músculos dos membros posteriores. Desta forma, o músculo

diafragma do camundongo *Dmd^{mdx}* é mais semelhante histologicamente, em termos de degeneração muscular, ao músculo esquelético dos pacientes DMD.

Assim sendo, Rouger *et al.* (2002) estudaram a expressão gênica de camundongos controle e *Dmd^{mdx}* em 12 idades diferentes, comparando os músculos posteriores e o diafragma, usando um microarranjo de cDNA personalizado. Dentre os 1082 genes estudados, 112 apresentaram expressão diferencial e foram divididos em grupos funcionais: 10 de defesa celular; 17 de sinalização; 19 de estrutura e mobilidade celular; 16 de expressão gênica/proteica; 19 de metabolismo; os 20 genes restantes não se encaixam em nenhuma categoria ou eram desconhecidos. Comparando os genes encontrados no *Dmd^{mdx}* com os genes encontrados no transcriptoma de pacientes DMD, os autores concluem que a deficiência de distrofina inicia cascatas patológicas semelhantes nas duas espécies, apesar de terem encontrado muitas diferenças entre os perfis de expressão de humanos e camundongos. Com isso, os autores concluem que nenhum desses músculos do camundongo corresponde inteiramente à patologia nos humanos (Rouger *et al.*, 2002).

Confrontando a expressão dos músculos dos membros posteriores e o diafragma, 34 genes apresentaram diferenças, com destaque para genes envolvidos na estrutura/organização de miofibras e no metabolismo energético e função mitocondrial, que podem ser os principais responsáveis pelas diferenças histológicas observadas. Portanto, a deficiência de distrofina causa perturbações diferentes nos transcriptomas desses músculos (Rouger *et al.*, 2002).

A análise do perfil de expressão gênica do músculo gastrocnêmio de camundongos *Dmd^{mdx}* com 16 semanas de idade (fase de estabilização da regeneração) revelou 137 genes diferencialmente expressos. Essa lista de genes foi comparada com dados obtidos em humanos (Chen *et al.*, 2000) e foi observado que há superexpressão de genes reguladores da polimerização da actina, cujos filamentos são comprometidos na ausência de distrofina, apenas nos camundongos, tornando esses genes candidatos a protetores contra danos nos filamentos de actina desses animais. O aumento na expressão de uma protease (*mast cell chymase*) envolvida na degradação de matriz extracelular também pode estar relacionado com o fenótipo mais brando do *Dmd^{mdx}* (Tseng *et al.*, 2002).

O estudo do transcriptoma de pacientes com DMD de Bakay e colaboradores destacou vias relacionadas com o IGF, incluindo inibidores do IGF, o que pode explicar a hipertrofia observada nos pacientes; e também a indução de genes cardíacos, devido a uma série de fatores, como a infiltração de macrófagos, ativação das células-satélite, aumento de fibras lentas, e mudanças na homeostase das miofibras (Bakay *et al.*, 2002).

Em estudo mais recente realizado por outro grupo utilizando um microarranjo de cDNA composto por 3500 genes expressos no músculo esquelético, foram encontrados 420

genes diferencialmente expressos em pacientes com DMD. Mais uma vez, grande parte desses genes tem relação com a resposta imune, o sarcômero, a matriz extracelular e o crescimento celular. Genes ligados ao desenvolvimento estão superexpressos, enquanto que genes relacionados à homeostase do músculo estão subexpressos, o que reflete eventos celulares como necrose e regeneração (Noguchi *et al.*, 2003).

Nas distrofias musculares, alguns músculos apresentam mais sinais de degeneração que outros. Na distrofia muscular de Duchenne, por exemplo, há comprometimento dos músculos dos membros e do diafragma, enquanto o músculo extraocular (EOM) é preservado. O padrão de expressão gênica do EOM de camundongos *Dmd^{mdx}* mostra que apenas sete genes apresentam expressão diferenciada, o que significa que a ausência de distrofina não provoca uma resposta exacerbada em nível transcricional nesse músculo. Sugere-se, portanto, que a proteção a este músculo venha de suas próprias diferenças constitutivas, que fornecem proteção contra danos devido à contração, em vez de adaptações moleculares (Porter, Merriam, Khanna, *et al.*, 2003).

A natureza heterogênea da distrofia muscular de Duchenne, como o período de latência entre o nascimento e a manifestação de sintomas, a preservação de certos músculos, e diferenças na severidade entre as espécies, sugere que apenas a deficiência de distrofina é insuficiente para causar distrofia muscular. A avaliação temporal dos perfis de expressão do diafragma de camundongos revelou por volta de 700 transcritos diferencialmente expressos, com distribuição funcional semelhante à vista nos músculos dos membros posteriores. Porém, 50% dos transcritos aparecem nos dois grupos musculares, o que é consistente com a hipótese de que há uma divergência nos mecanismos em resposta à ausência de distrofina, a depender do músculo, mas as diferenças são atribuídas mais ao nível de variação da expressão, do que à natureza dos genes. Assim, a alteração de alguns transcritos pode tanto elevar (diafragma) ou diminuir (músculo extraocular) a sensibilidade do músculo à distrofia muscular (Porter *et al.*, 2004).

Na tentativa de compreender por que cada músculo responde de maneira diferente à ausência de distrofina, Haslett e colaboradores estudaram os perfis de expressão gênica, em camundongos com deficiência de distrofina, dos músculos gastrocnêmio, quadríceps, sóleo, tibial anterior (TA), extensor dos dígitos (EDL) e diafragma individualmente. A análise mostrou que o gastrocnêmio, quadríceps, TA e EDL têm perfis similares. O sóleo e o diafragma diferem consideravelmente dos demais, mas são mais semelhantes entre si. As diferenças observadas não devem ser atribuídas apenas à proporção dos tipos de fibra que formam cada músculo; estudos mais detalhados são necessários para explicá-las (Haslett *et al.*, 2005).

A variabilidade no grau de severidade também é presente entre as diferentes formas de distrofia muscular. Com o objetivo de identificar os diferentes eventos

moleculares responsáveis pelas distrofias musculares, foi feita a comparação dos perfis de expressão gênica de camundongos com deficiência de distrofina, sarcoglicanas, disferlina, sarcospan comparativamente a camundongos selvagens. Foi possível discernir dois grupos: o primeiro formado pelos animais com o fenótipo distrófico grave (distrofinopatia e sarcoglicanopatia), e o segundo, por animais com fenótipo brando ou não afetados (deficientes de disferlina e sarcospan, e selvagens). Em resumo, genes envolvidos na resposta inflamatória e organização estrutural estão significativamente hiper-regulados, enquanto genes de metabolismo estão hiporregulados (Turk *et al.*, 2006).

Para caracterizar melhor os processos moleculares envolvidos na regeneração muscular, Turk e colaboradores estudaram a regeneração de camundongos *Dmd^{mdx}* em nove tempos diferentes, entre uma e 20 semanas de idade. 166 genes diferencialmente expressos foram analisados mais detalhadamente, e a maioria desses genes tem o pico de expressão na idade de oito semanas, quando a regeneração atinge seu ponto máximo. A partir dessa análise foi visto que as vias do Notch-Delta, Bmp15 e Neuregulin estão ativadas e envolvidas na ativação, proliferação e diferenciação de células-satélite, diferentemente do que é visto em humanos. Assim, os autores propõem que a ativação dessas vias contribui para o maior sucesso regenerativo nos camundongos, o que poderia ser uma estratégia terapêutica interessante para humanos (Turk *et al.*, 2005).

A proteína utrofina é homóloga à distrofina; por isso, acredita-se, que na ausência de distrofina, a superexpressão da utrofina possa trazer benefícios funcionais. O perfil de expressão de camundongos deficientes para distrofina, mas que superexpressam utrofina é bastante semelhante ao de camundongos selvagens. Logo, a superexpressão de utrofina pode ser uma terapia promissora para a deficiência de distrofina (Baban e Davies, 2008).

A tecnologia de microarranjos evolui rapidamente, com o surgimento de chips e programas computacionais de análise com coberturas mais completas dos genomas, permitindo análises cada vez mais complexas e refinadas, tornando necessária a repetição e reavaliação dos perfis de expressão gênica obtidos anteriormente.

A comparação do perfil de expressão de camundongos *Dmd^{mdx}* no decorrer da evolução da doença, utilizando um microarranjo com cobertura total do genoma murino, mostrou que há uma forte indução de genes ligados à adesão celular, matriz extracelular, proteólise, estrutura muscular e regeneração, em relação a animais normais. Foi visto também que o *Dmd^{mdx}* mantém a expressão de alguns genes que geralmente são suprimidos após o nascimento; e a natureza desses genes diferencialmente expressos provavelmente revela um mecanismo de resposta para reforçar a conexão entre o citoesqueleto e a matriz extracelular, na tentativa de proteger a fibra muscular contra os danos da contração muscular (Marotta *et al.*, 2009).

Pelo estudo de expressão gênica por *microarranjo* de músculos de pacientes com distrofia muscular de Duchenne e indivíduos idosos, Baron e colaboradores verificaram que há uma grande semelhança no perfil de expressão gênica entre esses dois grupos, sendo que a maioria dos genes coexpressos nos dois grupos está relacionada à resposta imunológica, à formação de fibrose e ao metabolismo mitocondrial. Isso sugere que processos patológicos distintos podem compartilhar um mesmo perfil gênico, com o envolvimento das mesmas cascatas de regulação. Além disso, os autores validaram seus resultados através de meta-análises, valendo-se de bancos de dados de microarranjos públicos (Baron *et al.*, 2011).

Com o avanço das pesquisas genômicas em larga escala, diversas ferramentas de bioinformática vem sendo desenvolvidas para auxiliar na análise e interpretação do número gigantesco de dados gerados.

Kotelnikova e colaboradores desenvolveram uma nova forma de análise, baseada em redes de regulação proteína-proteína extraídas da literatura, que permite a identificação de reguladores, como fatores de transcrição, que também apresentem expressão diferencial. Assim, essa abordagem conecta genes diferencialmente expressos às principais vias implicadas e aos principais reguladores de expressão. Os autores aplicaram essa abordagem aos dados de perfis de expressão gênica de distrofia muscular de Duchenne e identificaram um conjunto de potenciais reguladores e biomarcadores da progressão e gravidade de DMD. Tais biomarcadores podem ser muito úteis em tratamentos e triagens clínicas, sendo usados para monitorar a eficiência de drogas e a escolha das doses corretas (Kotelnikova *et al.*, 2012).

Com esses trabalhos podemos perceber o quão importante e delicada é a análise dos dados de expressão gênica global. A realização de meta-análises se torna cada vez mais interessante, tanto para fins de comparação com dados depositados em bancos públicos, quanto para fins de validação dos resultados obtidos. Além disso, é importante estar atento aos novos métodos de análise que surgem constantemente.

Portanto, a partir dos trabalhos avaliados, torna-se clara a importância da análise de transcriptomas para a melhor compreensão de mecanismos fisiopatológicos complexos. Por serem estudos de larga escala e de natureza exploratória, eles fornecem uma grande quantidade de dados, abrindo caminho para novas abordagens de pesquisa.

Objetivos

Dado o contexto apresentado na seção anterior, os objetivos do presente trabalho consistem em analisar o perfil de expressão gênica do tecido muscular de camundongos modelos de distrofias musculares - *Dmd*^{mdx}, *Large*^{myd} e *Dmd*^{mdx}/*Large*^{myd}^{-/-} em diferentes fases da progressão da doença, para identificar e analisar a função de genes diferencialmente expressos no fenótipo distrófico, contribuindo para um melhor entendimento dos processos patológicos nesses animais.

1. Objetivos específicos

- Análise da expressão gênica no tecido muscular de modelos animais portadores de mutações em diferentes genes musculares
- Triagem de genes diferencialmente expressos
- Correlacionar o perfil de expressão com:
 - O processo distrófico
 - A evolução da doença
 - Cada tipo de distrofia
- Análise da função dos genes diferencialmente expressos
- Análise das vias em que estes genes estão envolvidos
- Validação do padrão de expressão gênica obtido por PCR em tempo real

Metodologia

1. Camundongos

Os camundongos foram mantidos em biotério climatizado, com temperatura e iluminação controladas, em gaiolas com água e ração à vontade. O sacrifício dos animais foi realizado por exposição à CO₂.

1.1. Linhagens

Foram utilizadas as linhagens *Dmd^{mdx}*, *Large^{myd-/-}*, *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* e *C57Black6* (camundongo selvagem). As linhagens *Dmd^{mdx}* e *Large^{myd-/-}* são linhagens comerciais e são mantidas no biotério do Centro de Estudos do Genoma Humano há alguns anos. Os camundongos *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* foram gerados nesse mesmo biotério, pelo cruzamento das duas linhagens anteriores.

Dos animais utilizados nesse trabalho foram coletados os músculos quadríceps, diafragma e da parte inferior das patas posteriores; apenas esses últimos foram utilizados para os estudos de transcriptoma.

1.2. Genotipagem dos camundongos *Large^{myd-/-}* e *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}*

A mutação *myd* é mantida em heterozigose nas linhagens *Large^{myd-/-}* e *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}*, por isso os filhotes heterozigotos e homozigotos para a mutação são identificados por genotipagem.

Um segmento da cauda dos animais foi utilizado para a extração de DNA, que foi feita com solução de extração e proteinase K (Invitrogen, nº catálogo 25530-049). A genotipagem é feita por PCR (*Polymerase Chain Reaction*), utilizando dois pares de *primers*: GT4F (5'-GGCCGTGTTCCATAAGTTCAA-3') e GT4R (5'-GGCATACGCCTCTGTGAAAAC-3') reconhecem um produto de 162pb apenas quando há o alelo selvagem; MydF3 (5'-ATCTCAGCTCCAAAGGGTGAAG-3') e MydR2 (5'-GCCAATGTAAAATGAGGGGAAA-3') amplificam um produto de 421pb somente no alelo com a mutação (Browning *et al.*, 2005).

A amplificação por PCR foi feita em um volume de 25µl, contendo 20µM de cada *primer*, 40ng de DNA, e 0,5 unidades de Taq DNA Polymerase Recombinant (GE Healthcare, nº catálogo 27079805). Como os dois pares de *primers* possuem a mesma temperatura de *annealing*, a reação foi feita em duplex; as condições de reação foram as seguintes: um período de pré-incubação de 2 minutos a 96°C para a completa desnaturação do DNA, seguido por 35 ciclos de 96°C por 30 segundos, 59°C por 30

segundos e 72°C por 30 segundos. Os produtos da reação foram separados em gel de agarose 3%, corado com solução de brometo de etídio.

2. Extração e controle de qualidade de RNA

Os músculos foram macerados com cadinho e pistilo, imersos em nitrogênio líquido para evitar o descongelamento do tecido.

A extração de RNA do tecido pulverizado foi feita com o *RNeasy Microarray Tissue Mini Kit* (Quiagen, nº catálogo 73304) que foi desenvolvido para a purificação de RNA para a análise de microarranjos. A lise do tecido é feita com o *QIAzol Lysis Reagent*, uma solução de fenol e tiocianato. Após a adição de clorofórmio, o tecido homogeneizado é separado em uma fase orgânica e inorgânica por centrifugação. A fase aquosa superior é coletada, e é adicionado etanol para condições adequadas de ligação à membrana de sílica. A solução é transferida para uma coluna com a membrana, aonde o RNA se liga, e os contaminantes, como fenol, são removidos. Por fim, o RNA é eluído em água livre de RNase e armazenado a -70°C.

A quantificação do RNA obtido é feita no espectrofotômetro NanoDrop®, em 260nm. A pureza foi avaliada pela razão A_{260}/A_{280} . Foram utilizadas as amostras que apresentaram concentração igual ou maior que 100ng/μl e razão A_{260}/A_{280} entre 1,7 e 2,1. A integridade do RNA foi avaliada em gel de agarose 1%.

A integridade também foi avaliada no aparelho *Agilent 2100 Bioanalyzer*, utilizando o kit *Agilent RNA 6000 Nano* (Agilent, nº catálogo 5067-1511). Esse kit contém chips que possuem um conjunto de microcanais interconectados que são usados para a separação de fragmentos de ácidos nucleicos baseada nos seus tamanhos, por eletroforese. O ensaio calcula o número de integridade do RNA (RIN - *RNA integrity number*), que varia entre 1 e 10, sendo que 1 significa que o material está degradado, e 10 significa que o material está perfeito, sem nenhum sinal de degradação. Os resultados são visualizados no programa *2100 Expert* (Agilent).

3. Microarranjos

Com o objetivo de minimizar a variação entre amostras causada por diferenças sutis nos procedimentos, optou-se por utilizar sempre o mesmo método de extração de RNA, a mesma quantidade de RNA inicial, o mesmo termociclador e o mesmo ponto de parada em todos os experimentos.

Para a preparação das amostras para a análise do transcriptoma completo foi utilizado o kit *Ambion® WT Expression* (Invitrogen, nº catálogo 4411974). A partir do RNA

total, é gerado o cDNA para a fragmentação e marcação utilizando o kit *GeneChip® WT Terminal Labeling*. O kit *Ambion® WT Expression* utiliza um método de iniciação (*priming*) por transcrição reversa que se liga especialmente ao RNA não ribossômico, incluindo o mRNA com ou sem poly-A. As sequências de *primers* fornecem uma cobertura completa e imparcial do transcriptoma, reduzindo a hibridização com rRNA.

As amostras foram hibridizadas no *GeneChip® Mouse Gene 1.0 ST Array* (Affymetrix, nº catálogo 901171), que cobre um total de 26.166 transcritos e contém 770.317 sondas.

As etapas do protocolo completo estão resumidas na figura 6.

Figura 6 - Resumo dos procedimentos com o *GeneChip® Mouse Gene 1.0 ST Array*

3.1. Preparação do RNA controle e RNA total

Uma amostra de RNA controle é fornecida pelo kit (RNA total de células HeLa). São preparados 2µl de RNA controle em 40µl de água livre de nucleases.

De acordo com a recomendação do fabricante, a quantidade de RNA total a ser utilizada no experimento deve ser entre 50ng e 500ng; optou-se por sempre iniciar os experimentos com 250ng de RNA total das amostras.

Os controles poly-A (lys, phe, thr, e dap) (*Affymetrix® GeneChip® Poly-A RNA Control Kit*, nº catálogo 900433) foram desenhados para serem os controles exógenos que monitoram o processo de marcação. O *GeneChip®* de eucariotos contém conjuntos de sondas para vários genes da bactéria *B. subtilis* que estão ausentes nos eucariotos (lys, phe, thr, e dap). A cada amostra de RNA total foram adicionados 2µl de poly-A diluído. Os controles são amplificados e marcados junto com o RNA das amostras. O exame da intensidade de hibridização desses controles no chip ajuda a monitorar o processo de marcação independentemente da qualidade das amostras.

3.2. Síntese da primeira fita de cDNA

Nesse procedimento de transcrição reversa, o RNA total é ligado a *primers* contendo uma sequência do promotor T7. A reação sintetiza um cDNA de fita simples contendo a sequência do promotor T7.

Para essa reação são utilizados os reagentes listados na Tabela 1, que são adicionados a 5µl de amostra (3µl de RNA total mais 2µl de controle poly-A):

Tabela 1 - Reagentes da reação da primeira fita de cDNA

First-strand master mix	Volume (1 reação) µL
First-strand Buffer Mix	4
First-strand Enzyme Mix	1
Volume total	5

A reação é incubada por 1 hora a 25°C, 1 hora a 42°C, e por fim por pelo menos 2 minutos a 4°C.

3.3. Síntese da segunda fita de cDNA

Nessa etapa, o cDNA de fita simples é convertido em cDNA de dupla-fita, que funciona como molde para a transcrição. Essa reação utiliza a DNA polimerase para sintetizar a segunda fita de cDNA e RNase H para degradar o RNA (Tabela 2).

Tabela 2 - Reagentes da reação da segunda fita de cDNA

Second-Strand Master Mix	Volume (1 reação) μL
Nuclease free water	32,5
Second-strand Buffer Mix	12,5
Second-strand Enzyme Mix	5
Volume total	50

Aos 10 μL de cDNA da etapa anterior são adicionados 50 μL do *Second-Strand Master Mix*. A reação é incubada por uma hora a 16°C, 10 minutos a 65°C e por no mínimo 2 minutos a 4°C.

3.4. Síntese de cRNA por transcrição *in vitro*

Nesse procedimento, cRNA antissenso é sintetizado e amplificado por transcrição *in vitro* do cDNA produzindo no passo anterior, utilizando a T7 RNA polimerase.

Tabela 3 - Reagentes da reação de cRNA

IVT master mix	Volume (1 reação) μL
IVT Buffer Mix	24
IVT Enzyme Mix	6
Volume total	30

São adicionados 30 μL do *IVT master mix* (Tabela 3) a 60 μL do cDNA. A reação é incubada a 40°C durante 16 horas, e depois *overnight* a 4°C.

3.5. Purificação de cRNA

Esse procedimento tem como objetivo remover enzimas, sais, fosfatos inorgânicos, e nucleotídeos não incorporados para aumentar a estabilidade do cRNA produzido, utilizando esferas magnéticas que capturam o cRNA.

Tabela 4 - Reagentes da purificação de cRNA

cRNA binding mix	Volume (1 reação) μL
Nucleic acid binding beads	10
Nucleic acid binding buffer concentrate	50
Volume total	60

A cada amostra de cRNA (90µL) são adicionados 60µL de *cRNA binding mix* (Tabela 4); em seguida, essa mistura é transferida para um poço de uma placa com fundo em formato de U e adiciona-se 60µL de isopropanol 100%. As esferas magnéticas são capturadas com o auxílio de uma placa magnética e lavadas duas vezes com 100µL de *Nucleic Acid Wash Solution*. Por fim, o cRNA é liberado das esferas e eluído em 40µL de *Elution Solution*.

3.6. *Rendimento do cRNA*

O rendimento de cRNA depende da quantidade e qualidade do RNA poly-A no RNA total inicial. O cRNA purificado é quantificado pela absorbância de raios UV em 260nm, utilizando o espectrofotômetro NanoDrop®. Para o prosseguimento do experimento, deve-se preparar 455ng/µL de cRNA, que é equivalente a 10µg de cRNA em 22µL.

3.7. *Síntese do segundo ciclo de cDNA*

Nessa etapa, cDNA fita-senso é sintetizado pela transcrição reversa do cRNA utilizando-se *primers* randômicos. A fita senso de cDNA contém dUTP em proporção relativa a dTTP.

Primeiro, adiciona-se 2µL de *Random Primers* a 22µL de cRNA (10µg) e incuba por 5 minutos a 70°C, 5 minutos a 25°C e por 2 minutos a 4°C. Em seguida, prepara-se o *2nd-Cycle Master Mix* (Tabela 5).

Tabela 5 - Reagentes da reação do segundo ciclo de cDNA

2nd-Cycle Master mix	Volume (1 reação) µL
2nd-Cycle Buffer Mix	8
2nd-Cycle Enzyme Mix	8
Volume total	16

Adiciona-se 16µL desse mix aos 24µL de cRNA; a reação é incubada por 10 minutos a 25°C, 90 minutos a 42°C, 10 minutos a 70°C e por pelo menos 2 minutos a 4°C.

3.8. *Hidrólise com RNase H*

Nessa etapa, a enzima RNase H degrada o molde de cRNA, deixando apenas o cDNA de fita simples. Para isso, são adicionados 2µL de RNase H ao cDNA do segundo ciclo produzido anteriormente e incuba-se a 37°C por 45 minutos, a 95°C por 5 minutos, e por último a 4°C por no mínimo 2 minutos.

3.9. Purificação do cDNA do segundo ciclo

Após sua síntese, o cDNA deve ser purificado para a remoção de enzimas, sais e dNTPs não incorporados. Esse processo prepara o cDNA para a fragmentação e a marcação. O procedimento é semelhante ao de purificação do cRNA.

Primeiro, adiciona-se 18µL de água livre de nucleases aos 42µL de cDNA e 60µL do *cDNA Binding Mix* (Tabela 6).

Tabela 6 - Reagentes da purificação de cDNA

cDNA binding mix	Volume (1 reação) µL
Nucleic acid binding beads	10
Nucleic acid binding buffer concentrate	50
Volume total	60

Essa mistura é transferida para um poço de uma placa com fundo em formato de U e são adicionados 120µL de etanol 100% a cada amostra. As esferas magnéticas são capturadas com o auxílio de uma placa magnética e lavadas duas vezes com 100µL de *Nucleic Acid Wash Solution*. Por fim, o cDNA é liberado das esferas e eluído em 30µL de *Elution Solution*.

3.10. Rendimento do cDNA

A partir de 10µg de cRNA espera-se um rendimento de 6 a 9µg de cDNA. O cDNA purificado é quantificado pela absorbância de raios UV em 260nm, utilizando o espectrofotômetro NanoDrop®.

3.11. Fragmentação

A fragmentação do cDNA é feita com o kit GeneChip® WT Terminal Labeling. O cDNA é tratado com as enzimas *uracil DNA glycosylase* (UDG) e *apurinic/apyrimidinic endonuclease 1* (APE1) que reconhecem especificamente os resíduos de dUTP e cortam a fita de cDNA. Para a reação de fragmentação são necessários 5,5µg de cDNA, diluídos em 31,2µL de água livre de nucleases. Os reagentes do *Fragmentation Master Mix* estão na Tabela 7.

Tabela 7 - Reagentes da reação de fragmentação do ss-cDNA

Fragmentation master mix	Volume (1 reação) µL
RNase-free Water	10
10X cDNA Fragmentation Buffer	4,8
UDG, 10U/µl	1
APE 1, 1000U/µl	1
Volume total	16,8

Então, são adicionados 16,8 µl de *Fragmentation Master Mix* ao cDNA; a reação é incubada durante 60 minutos a 37°C, por 2 minutos a 93°C e por ao menos 2 minutos a 4°C. Ao término da reação, 45µl do produto são transferidos para um tubo novo, os 3µl restantes são aplicados em gel de agarose 1% para checagem da fragmentação.

3.12. Marcação do cDNA

O cDNA fragmentado é marcado pela enzima terminal *deoxynucleotidyl transferase* (TdT) com o reagente de marcação (*Affymetrix® DNA Labeling Reagent*) que está covalentemente ligado à biotina.

Os reagentes utilizados estão na Tabela 8.

Tabela 8 - Reagentes de marcação do cDNA

Labeling master mix	Volume (1 reação) µL
5X TdT Buffer	12
TdT	2
DNA Labeling Reagent, 5mM	1
Volume total	15

A reação é incubada a 37°C por 60 minutos, a 70°C por 10 minutos e a 4°C por pelo menos 2 minutos.

3.13. Hibridização

Nessa etapa, as amostras são preparadas para a aplicação nos *chips*; é utilizado o *GeneChip® Hybridization, Wash and Stain Kit*. Para cada amostra (27 µl) são adicionados 73 µl do *Hybridization Master Mix* (Tabela 9).

Tabela 9 - Reagentes da reação de hibridização

Hybridization master mix	Volume (1 reação) µL
Control Oligonucleotide B2 (3nM)	1,7
20X Eukaryotic Hybridization Controls	5
2X Hybridization Mix	50
DMSO	7
Nuclease-free water	9,3
Volume total	73

A reação é incubada a 99°C por 5 minutos e a 45°C por 5 minutos. Em seguida, 80µl da amostra são injetados no septo do chip. Os chips são então colocados no forno de hibridização *Hybridization Oven 640*, na temperatura de 45°C, com rotação de 60 rpm, durante 17 horas.

3.14. Lavagem e marcação

Após a hibridização, os chips passam por um processo de lavagem no equipamento *Fluidics Station 450/250*. Os chips também são marcados com anticorpos.

3.15. Escaneamento

A leitura da intensidade de fluorescência dos chips é feita no equipamento *Affymetrix® GeneChip® Scanner 3000*, operado pelo programa *Affymetrix® GeneChip Command Console (AGCC)*.

4. Controle de qualidade dos dados

4.1. Imagem

O escaneamento dos chips fornece uma imagem que deve ser inspecionada para a presença de artefatos, como bolhas e manchas. Também são verificadas as bordas da imagem para se observar a hibridização do oligo B2, que serve como um controle positivo da hibridização e é usado pelo software para posicionar uma grade de alinhamento sobre a imagem.

4.2. Controles positivos

Os controles poly-A adicionados no início das reações são utilizados para monitorar o processo de marcação das amostras. Todos os controles devem estar presentes com valores crescentes de sinal na ordem *lys, phe, thr* e *dap*.

Os controles de hibridização *bioB*, *bioC* e *bioD* representam genes da via de síntese da biotina na *E. coli*. O controle *cre* é um gene do bacteriófago P1. Esses controles são usados para avaliar a eficiência da hibridização e devem estar presentes, com valores de sinal crescentes.

5. Análise dos dados

5.1. Pré-processamento dos dados

Os dados foram normalizados com o algoritmo RMA (*Robust Multichip Analysis*), no programa *Expression Console™* (Affymetrix). Esse método aumenta a sensibilidade a pequenas mudanças entre as amostras controle e experimentais e minimiza a variância entre os experimentos. O RMA consiste de três etapas: o ajuste do *background*, a normalização do quantil e a sumarização. Como é uma abordagem multichip, todos os arrays a serem comparados devem ser incluídos juntos na sumarização.

5.2. Triagem dos genes diferencialmente expressos

A seleção dos genes com expressão diferencial foi feita no programa MeV, utilizando o algoritmo SAM. O SAM (Tusher, Tibshirani e Chu, 2001) é utilizado para selecionar genes significantes baseando-se na expressão diferencial entre conjuntos de amostras. Ele é útil quando não existe uma hipótese *a priori* de que alguns genes terão níveis de expressão médios significativamente diferentes entre os conjuntos de amostras.

O teste gera um gráfico dos valores observados versus esperados (baseado nos dados permutados) e também dá uma estimativa da taxa de falsas descobertas (FDR - *False Discovery Rate*), que é a proporção de genes que podem ter sido identificados por acaso como significantes. O FDR é ajustado pelo parâmetro delta.

5.3. Análise funcional dos genes diferencialmente expressos

Para o estudo dos genes selecionados foi utilizado o programa IPA (Ingenuity® Systems, www.ingenuity.com) que indica as funções e as possíveis relações entre os genes, baseando-se em dados da literatura, utilizando os parâmetros padrão: 35 moléculas por rede, 25 redes por análise e apenas relações diretas.

As listas de genes também foram avaliadas quanto ao enriquecimento de vias biológicas, utilizando o programa Expander (*EXpression ANalyzer and DisplayER* - <http://acgt.cs.tau.ac.il/expander/>) que fornece ferramentas para essas análises. Para isso, os genes foram agrupados com o algoritmo Click e foi utilizado o KEGG Pathways (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*).

A análise de enriquecimento de funções do *Gene Ontology* (GO) foi feita com a ferramenta DAVID (*Database for Annotation, Visualization and Integrate Discovery*, <http://david.abcc.ncifcrf.gov/>).

6. Validação dos dados por PCR em tempo real - quantificação relativa

Foram selecionados onze genes com expressão diferencial para a validação dos resultados do microarranjo de DNA. As mesmas amostras de RNA foram utilizadas para a síntese de cDNA, de acordo com o protocolo da enzima MMLV (Invitrogen); foram escolhidas três amostras de cada linhagem e idade, dentro das cinco disponíveis (Tabela 10).

Tabela 10 - Amostras usadas na validação dos genes por PCR em tempo real

21 dias	3 meses	6 meses
<i>C57BL</i> 1B	<i>C57BL</i> 20	<i>C57BL</i> 6
<i>C57BL</i> 1D	<i>C57BL</i> 46	<i>C57BL</i> 8
<i>C57BL</i> 1E	<i>C57BL</i> 47	<i>C57BL</i> 49
<i>Dmd^{mdx}</i> 1B	<i>Dmd^{mdx}</i> 8	<i>Dmd^{mdx}</i> 2
<i>Dmd^{mdx}</i> 1C	<i>Dmd^{mdx}</i> 28	<i>Dmd^{mdx}</i> 35
<i>Dmd^{mdx}</i> 1E	<i>Dmd^{mdx}</i> 29	<i>Dmd^{mdx}</i> 36
<i>Large^{myd/-}</i> 39E	<i>Large^{myd/-}</i> 22D	<i>Large^{myd/-}</i> 15
<i>Large^{myd/-}</i> 40E	<i>Large^{myd/-}</i> 63D	<i>Large^{myd/-}</i> 18
<i>Large^{myd/-}</i> 73D	<i>Large^{myd/-}</i> 64D	<i>Large^{myd/-}</i> PL2B
<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}</i> 33G	<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}</i> 31F	<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}</i> 12E
<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}</i> 41B	<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}</i> 69C	<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}</i> 31E
	<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}</i> 94E	<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}</i> 50

A Tabela 11 mostra os genes e as sequências dos *primers* utilizadas.

Tabela 11 - Genes escolhidos para a validação e respectivos pares de *primers*

Gene	Primer Forward (5'-3')	Primer Reverse (5'-3')	Amplicon
Ankrd1	TGCGATGAGTATAAACGGACG	GTGGATTCAAGCATATCTCGGAA	119pb
Gpnmb	AGAAATGGAGCTTTGTCTACGTC	CTTCGAGATGGGAATGTATGCC	170pb
Large	CACCTGTACTTCCTGCACTACGA	CAGATGGCCTCCAGCATCTG	108pb
Mmp14	CAGTATGGCTACCTACCTCCAG	GCCTTGCTGTCACTTGTA	119pb
Mstn	AACCTTCCCAGGACCAGGAG	CATCGCAGTCAAGCCCAAAG	101pb
Mup1	TGTGTCCATGCAGAAGAAGC	CAAGACATGGATTGCTCCA	156pb
Myog	CAGTACATTGAGCGCCTACAG	GGACCGAACTCCAGTGCA	164pb
Nos1	CTGGTGAAGGAACGGGTCAG	CCGATCATTGACGGCGAGAAT	120pb
Ostn	CTGGAGATTGGCAAGTACACAC	CGCAGGAGCTTAGCCGAAA	144pb
Pttg1	TCTGATCCGCTGTACTCTCCT	AGGCGGCAATTCAACATCCA	60pb
Tnnt2	CAGAGGAGGCCAACGTAGAAG	CTCCATCGGGGATCTTGGGT	138pb

A partir das mesmas amostras de RNA usadas no experimento de microarranjo de DNA, foi sintetizado cDNA de acordo com o protocolo da enzima MMLV (Invitrogen). A reação de PCR quantitativo foi baseada no protocolo descrito por Gosselin (Gosselin *et al.*, 2004). Na tabela 12 estão os reagentes e as condições da reação.

Tabela 12 - Reagentes e condições da reação de PCR em tempo real

Volume		Perfil de ciclagem térmica			
		Etapa	Repetições	Temperatura	Tempo
H₂O DEPC	6,5µl	1	1	50°C	2min
FastStart Universal	12,5µl				
SYBR Green Master		2	1	95°C	10min
Primer F (600nM)	2,5µl	3	40	95°C	15s
Primer R (600nM)	2,5µl			60°C	1min
cDNA	1,0µl				
Total	25µl				

Para a quantificação relativa, deve ser feita uma curva-padrão para cada gene alvo, para o cálculo da eficiência da reação, determinando-se o limiar do sinal de fluorescência necessário para a determinação do valor de Ct (ciclo aonde é feita a medida da fluorescência). Esse limiar deve ser acima da linha de fluorescência basal e baixo o suficiente, de modo que esteja na região de crescimento exponencial. O Ct depende do número inicial de cópias da amostra e da eficiência da amplificação do PCR. Optou-se que o próprio programa do termociclador Real-Time 7500 Fast (Applied Biosystems) localize o limiar, cujo valor ideal está na região onde a eficiência de amplificação é próxima de 100%.

Em seguida, é calculado o ΔCt , que é diferença entre a média das triplicatas do Ct do gene alvo e a média das triplicatas do Ct do gene endógeno: $\Delta Ct = Ct \text{ (amostra)} - Ct \text{ (controle endógeno)}$. Então, é calculado o $\Delta\Delta Ct$, que é a diferença entre as médias dos ΔCt de uma amostra do gene alvo e de uma amostra calibradora: $\Delta\Delta Ct = \text{média } \Delta Ct \text{ (amostra alvo)} - \text{média } \Delta Ct \text{ (amostra calibradora)}$. O $\Delta\Delta Ct$ é utilizado para calcular o valor da expressão: $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Esse valor final fornece o nível de expressão de cada gene em reação à expressão da amostra calibradora. O programa do equipamento mostra os resultados em escala logarítmica, onde cada incremento corresponde a uma diferença de 10 vezes na expressão gênica.

Resultados

1. Coleta da amostra

Foram obtidos cinco animais machos de cada linhagem e cada idade estudadas, totalizando 60 animais.

Para a obtenção dos 15 animais duplo-mutantes ($Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}$) foram formados mais de 30 casais heterozigotos, que produziram um total de 485 filhotes. Esses animais foram genotipados e identificamos 46 animais duplo-afetados, sendo 35 machos e 11 fêmeas. A sobrevivência dos filhotes duplo-mutantes é reduzida, com a ocorrência de muitos casos de canibalismo e morte antes do desmame (por volta de 21 dias). Na tese de doutorado de Machado (2010) é relatado que por volta de 84% dos animais duplo-mutantes morrem no período perinatal. Dos 35 machos, apenas 18 animais ultrapassaram a idade de 21 dias.

2. Extração e controle de qualidade de RNA

As primeiras tentativas de extração de RNA foram feitas com o kit *Nucleo Spin RNA II* (Macherey-Nagel), porém esse método não foi eficiente, pois o rendimento do RNA foi muito baixo. Então, a extração de RNA foi feita com o kit *RNeasy Microarray Tissue Mini* (Qiagen). A tabela 13 lista as amostras e suas respectivas concentrações e a razão A_{260}/A_{280} , obtidas pela quantificação no espectrofotômetro NanoDrop.

Tabela 13 - Identificação das amostras utilizadas; quantificação do RNA e razão A_{260}/A_{280}

Animal	Quantificação (ng/ μ L)	Razão A_{260}/A_{280}
21 dias		
<i>C57BL</i> 1A	204,42	2,03
<i>C57BL</i> 1B	253,62	2,03
<i>C57BL</i> 1C	137,35	2,02
<i>C57BL</i> 1D	532,32	2,07
<i>C57BL</i> 1E	556,71	2,10
Dmd^{mdx} 1A	418,27	1,86
Dmd^{mdx} 1B	460,76	1,78
Dmd^{mdx} 1C	428,97	1,78
Dmd^{mdx} 1D	408,39	2,05
Dmd^{mdx} 1E	956,44	2,08
$Large^{myd-/-}$ 39E	528,87	2,26
$Large^{myd-/-}$ 40E	442,56	2,03
$Large^{myd-/-}$ 73D	313,15	1,75
$Large^{myd-/-}$ 76D	297,75	1,75
$Large^{myd-/-}$ 84D	265,58	1,73
$Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}$ 1C	144,25	1,74
$Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}$ 11C	228,48	2,05

<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 32G	213,93	2,04
<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 33G	283,75	2,02
<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 41B	374,82	1,80
3 meses		
<i>C57BL</i> 20	436,94	1,98
<i>C57BL</i> 23	381,86	2,04
<i>C57BL</i> 25	272,22	2,01
<i>C57BL</i> 46	853,80	1,89
<i>C57BL</i> 47	734,95	1,97
<i>Dmd^{mdx}</i> 8	828,22	2,07
<i>Dmd^{mdx}</i> 9	613,66	1,82
<i>Dmd^{mdx}</i> 10	503,69	1,78
<i>Dmd^{mdx}</i> 28	965,43	2,07
<i>Dmd^{mdx}</i> 29	992,20	1,96
<i>Large^{myd-/-}</i> 22D	1522,62	1,93
<i>Large^{myd-/-}</i> 27D	950,24	1,90
<i>Large^{myd-/-}</i> 63D	1853,19	1,98
<i>Large^{myd-/-}</i> 64D	1338,70	1,97
<i>Large^{myd-/-}</i> 118	622,47	1,81
<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 31F	1373,03	1,98
<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 55C	651,78	1,92
<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 58C	780,79	1,83
<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 69C	920,30	1,87
<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 94E	946,36	2,00
6 meses		
<i>C57BL</i> 5	293,86	1,72
<i>C57BL</i> 6	488,23	2,08
<i>C57BL</i> 7	274,52	2,03
<i>C57BL</i> 8	488,37	2,08
<i>C57BL</i> 49	397,35	2,04
<i>Dmd^{mdx}</i> 1	175,62	2,01
<i>Dmd^{mdx}</i> 2	1018,54	1,92
<i>Dmd^{mdx}</i> 3	507,04	1,73
<i>Dmd^{mdx}</i> 35	1296,28	2,06
<i>Dmd^{mdx}</i> 36	614,51	2,08
<i>Large^{myd-/-}</i> 15	776,96	2,07
<i>Large^{myd-/-}</i> 18	600,97	2,05
<i>Large^{myd-/-}</i> PL2A	346,52	2,00
<i>Large^{myd-/-}</i> PL2B	446,26	2,01
<i>Large^{myd-/-}</i> PL2C	433,69	2,02
<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 12E	879,92	2,05
<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 31E	900,64	2,04
<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 49	461,76	2,00
<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 50	470,83	1,84
<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 51	428,36	2,09

Todas as amostras produziram quantidades adequadas de RNA total, acima de 130 ng/ μ L, e a razão A_{260}/A_{280} também está dentro do esperado, entre 1,7 e 2,1. Na avaliação da integridade do RNA por gel de agarose foi possível visualizar as bandas de RNA ribossômico 28S e 18S (Figura 7); e também que, durante a extração, algumas amostras apresentaram contaminação com DNA genômico. Essas amostras foram tratadas com DNase e repurificadas por precipitação com etanol, e a eliminação da contaminação foi satisfatória.

Figura 7 - Géis de agarose 2% corado com brometo de etídio (a - e). Amostras de RNA; é possível visualizar as bandas do RNA ribossômico 28S e 18S. A banda de contaminação de DNA fica acima da banda 28S

As amostras também foram avaliadas no equipamento *BioAnalyzer* (Applied Biosystems). Os eletroferogramas com os respectivos RIN (*RNA integrity number*) de todas as sessenta amostras estão na figura 8. Amostras com RIN igual ou superior a 7 são consideradas de boa qualidade.

Figura 8 - Eletroferogramas e respectivos RIN das 60 amostras do estudo. Amostras com RIN igual ou superior a 7 são de boa qualidade

3. Controle de qualidade dos microarranjos e pré-análise

3.1. Síntese de cRNA e cDNA, fragmentação e hibridização

As sessenta amostras de RNA foram diluídas para a reação de síntese da primeira e segunda fita de cDNA, seguida da síntese de cRNA por transcrição in vitro, e purificação do cRNA produzido. O cRNA foi então quantificado e todas as amostras apresentaram o rendimento necessário para o prosseguimento do protocolo, que é de 455 ng/μL (Tabelas 14 a 16).

Tabela 14 - Quantificação do cRNA das amostras do grupo de animais com 21 dias

Amostra	ng/μL	Amostra	ng/μL
C57BL 1A	1023,31	Large ^{myd/-} 39E	3148,90
C57BL 1B	579,90	Large ^{myd/-} 40E	3452,22
C57BL 1C	1001,48	Large ^{myd/-} 73D	1723,73
C57BL 1D	1256,98	Large ^{myd/-} 76D	1803,17
C57BL 1E	1385,82	Large ^{myd/-} 84D	1317,70
Dmd ^{mdx} 1A	1620,39	Dmd ^{mdx} /Large ^{myd/-} 1C	2258,62
Dmd ^{mdx} 1B	1133,48	Dmd ^{mdx} /Large ^{myd/-} 11C	1870,35
Dmd ^{mdx} 1C	1196,54	Dmd ^{mdx} /Large ^{myd/-} 32G	2492,78
Dmd ^{mdx} 1D	2245,91	Dmd ^{mdx} /Large ^{myd/-} 33G	2443,67
Dmd ^{mdx} 1E	2213,17	Dmd ^{mdx} /Large ^{myd/-} 41B	1768,11

Tabela 15 - Quantificação do cRNA das amostras do grupo de animais com 3 meses

Amostra	ng/μL	Amostra	ng/μL
C57BL 20	3111,45	<i>Large</i> ^{myd-/-} 22D	3705,29
C57BL 23	3680,65	<i>Large</i> ^{myd-/-} 27D	3814,16
C57BL 25	1201,69	<i>Large</i> ^{myd-/-} 63D	3607,16
C57BL 46	1166,66	<i>Large</i> ^{myd-/-} 64D	3684,95
C57BL 47	3396,19	<i>Large</i> ^{myd-/-} 118	2588,93
<i>Dmd</i> ^{mdx} 8	2688,91	<i>Dmd</i> ^{mdx} / <i>Large</i> ^{myd-/-} 31F	1664,27
<i>Dmd</i> ^{mdx} 9	3672,99	<i>Dmd</i> ^{mdx} / <i>Large</i> ^{myd-/-} 55C	3275,85
<i>Dmd</i> ^{mdx} 10	3477,20	<i>Dmd</i> ^{mdx} / <i>Large</i> ^{myd-/-} 58C	3134,49
<i>Dmd</i> ^{mdx} 28	3733,00	<i>Dmd</i> ^{mdx} / <i>Large</i> ^{myd-/-} 69C	1812,62
<i>Dmd</i> ^{mdx} 29	3736,18	<i>Dmd</i> ^{mdx} / <i>Large</i> ^{myd-/-} 94E	3311,52

Tabela 16 - Quantificação do cRNA das amostras do grupo de animais com 6 meses

Amostra	ng/μL	Amostra	ng/μL
C57BL 5	3384,54	<i>Large</i> ^{myd-/-} 15	3472,57
C57BL 6	3877,59	<i>Large</i> ^{myd-/-} 18	3755,06
C57BL 7	889,21	<i>Large</i> ^{myd-/-} PL2A	1730,83
C57BL 8	1509,53	<i>Large</i> ^{myd-/-} PL2B	1909,27
C57BL 49	1360,25	<i>Large</i> ^{myd-/-} PL2C	1754,23
<i>Dmd</i> ^{mdx} 1	995,21	<i>Dmd</i> ^{mdx} / <i>Large</i> ^{myd-/-} 12E	3467,50
<i>Dmd</i> ^{mdx} 2	783,26	<i>Dmd</i> ^{mdx} / <i>Large</i> ^{myd-/-} 31E	3488,50
<i>Dmd</i> ^{mdx} 3	859,47	<i>Dmd</i> ^{mdx} / <i>Large</i> ^{myd-/-} 49	2695,19
<i>Dmd</i> ^{mdx} 35	886,72	<i>Dmd</i> ^{mdx} / <i>Large</i> ^{myd-/-} 50	1027,46
<i>Dmd</i> ^{mdx} 36	1224,28	<i>Dmd</i> ^{mdx} / <i>Large</i> ^{myd-/-} 51	1320,69

Em seguida, foi feita a segunda síntese de cDNA, a hidrólise e purificação do cDNA. O rendimento de cDNA deve ser de no mínimo 220 ng/ μ L. Todas as amostras atenderam a esse critério (Tabelas 17 a 19) e foram diluídas e fragmentadas.

Tabela 17 - Quantificação do cDNA das amostras do grupo de animais com 21 dias

Amostra	ng/μL	Amostra	ng/μL
C57BL 1A	434,93	<i>Large</i> ^{myd-/-} 39E	428,59
C57BL 1B	412,25	<i>Large</i> ^{myd-/-} 40E	394,79
C57BL 1C	396,76	<i>Large</i> ^{myd-/-} 73D	374,54
C57BL 1D	412,22	<i>Large</i> ^{myd-/-} 76D	407,29
C57BL 1E	396,53	<i>Large</i> ^{myd-/-} 84D	372,56
<i>Dmd</i> ^{mdx} 1A	393,43	<i>Dmd</i> ^{mdx} / <i>Large</i> ^{myd-/-} 1C	402,95
<i>Dmd</i> ^{mdx} 1B	366,39	<i>Dmd</i> ^{mdx} / <i>Large</i> ^{myd-/-} 11C	384,71
<i>Dmd</i> ^{mdx} 1C	375,39	<i>Dmd</i> ^{mdx} / <i>Large</i> ^{myd-/-} 32G	344,56
<i>Dmd</i> ^{mdx} 1D	414,47	<i>Dmd</i> ^{mdx} / <i>Large</i> ^{myd-/-} 33G	380,07
<i>Dmd</i> ^{mdx} 1E	400,69	<i>Dmd</i> ^{mdx} / <i>Large</i> ^{myd-/-} 41B	339,33

Tabela 18 - Quantificação do cDNA das amostras do grupo de animais com 3 meses

Amostra	ng/μL	Amostra	ng/μL
<i>C57BL</i> 20	453,75	<i>Large^{myd-/-}</i> 22D	456,82
<i>C57BL</i> 23	474,42	<i>Large^{myd-/-}</i> 27D	469,00
<i>C57BL</i> 25	365,50	<i>Large^{myd-/-}</i> 63D	450,97
<i>C57BL</i> 46	415,15	<i>Large^{myd-/-}</i> 64D	433,84
<i>C57BL</i> 47	454,12	<i>Large^{myd-/-}</i> 118	407,85
<i>Dmd^{mdx}</i> 8	416,17	<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 31F	387,56
<i>Dmd^{mdx}</i> 9	477,51	<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 55C	446,64
<i>Dmd^{mdx}</i> 10	446,49	<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 58C	440,99
<i>Dmd^{mdx}</i> 28	463,57	<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 69C	378,53
<i>Dmd^{mdx}</i> 29	473,68	<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 94E	438,05

Tabela 19 - Quantificação do cDNA das amostras do grupo de animais com 6 meses

Amostra	ng/μL	Amostra	ng/μL
<i>C57BL</i> 5	451,37	<i>Large^{myd-/-}</i> 15	413,11
<i>C57BL</i> 6	479,29	<i>Large^{myd-/-}</i> 18	407,49
<i>C57BL</i> 7	385,51	<i>Large^{myd-/-}</i> PL2A	412,85
<i>C57BL</i> 8	402,88	<i>Large^{myd-/-}</i> PL2B	404,39
<i>C57BL</i> 49	412,18	<i>Large^{myd-/-}</i> PL2C	430,55
<i>Dmd^{mdx}</i> 1	384,46	<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 12E	454,85
<i>Dmd^{mdx}</i> 2	383,15	<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 31E	386,06
<i>Dmd^{mdx}</i> 3	406,87	<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 49	399,15
<i>Dmd^{mdx}</i> 35	384,67	<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 50	309,08
<i>Dmd^{mdx}</i> 36	447,74	<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> 51	388,17

Parte do produto da fragmentação foi aplicada em gel de agarose 1% para se avaliar se a reação ocorreu de forma adequada, pela presença de um arrasto no gel (exemplo na Figura 9).

Figura 9 - Gel de agarose 1% corado com etídeo mostrando a fragmentação de algumas amostras

Por fim, as amostras fragmentadas foram marcadas e hibridizadas nos chips por 16 horas, que foram lavados e escaneados. As imagens das lâminas foram inspecionadas para se verificar a presença de bolhas, manchas e artefatos, que prejudicam a leitura correta dos dados (exemplo Figura 10). Além disso, foi checada a hibridização do oligo B2 em alguns pontos da lâmina, como o local onde está escrito o nome da lâmina (Figura 11). Todos as lâminas atenderam a esses critérios.

Figura 10 - Imagens das lâminas dos microarranjos. Estão ilustradas uma amostra de cada idade e linhagem para exemplificação

Figura 11 - Controle de hibridização do oligo B2. O nome do chip deve ser formado completamente

4. Pré-análise dos dados de expressão

4.1. Controle de qualidade - métricas das sondas

Os dados obtidos a partir do escaneamento das lâminas foram analisados no programa *Expression Console™* (Affymetrix) para verificação de uma série de parâmetros da qualidade das reações.

O primeiro deles é o *pm_mean* que é a média de intensidade bruta de todas as sondas do microarranjo antes de qualquer transformação das intensidades. Esse valor é usado para determinar se algum chip está muito escuro ou muito brilhante; e ele também está relacionado com outro valor, o *bgrd_mean*, que é a média da intensidade bruta das sondas utilizada para calcular o *background* antes da transformação das intensidades. Dados de boa qualidade devem apresentar valores de *pm-mean* superiores aos de *bgrd_mean*. Todas as amostras em estudo atendem a esse critério (figuras 12 a 14).

Figura 12 - Valores de bgrd_mean (vermelho) e pm_mean (azul). Amostras de 21 dias. Em todos os casos o valor de pm_mean é superior ao de bgrd_mean

Figura 13 - Valores de bgrd_mean (vermelho) e pm_mean (azul). Amostras de 3 meses. Em todos os casos o valor de pm_mean é superior ao de bgrd_mean

Figura 14 - Valores de bgrd_mean (vermelho) e pm_mean (azul). Amostras de 6 meses. Em todos os casos o valor de pm_mean é superior ao de bgrd_mean

O valor *pos_vs_neg_auc* é baseado nos resultados da sumarização do conjunto de sondas. Esse valor é uma comparação entre os sinais dos controles positivos (medida de positivos verdadeiros) e negativos (medida de falsos positivos), onde 1 indica uma separação perfeita entre os controles, e 0,5 indica não separação (valores entre 0,8 e 0,9 são os mais comuns). Essa medida é sensível à qualidade do RNA. Todas as amostras apresentam valores dentro desse limite, assim confirmamos a qualidade dos RNAs utilizados (Figuras 15 a 17).

Figura 15 - Valores de pos_vs_neg_auc das amostras de 21 dias. Todas as amostras apresentam valores entre 0,89 e 0,91

Figura 16 - Valores de pos_vs_neg_auc das amostras de 3 meses. Todas as amostras apresentam valores entre 0,89 e 0,92

Figura 17 - Valores de pos_vs_neg_auc das amostras de 6 meses. Todas as amostras apresentam valores entre 0,88 e 0,92

O conjunto de controles de hibridização *bac_spike* são sondas que hibridizam com os controles exógenos bacterianos e servem para identificar problemas na hibridização. Eles devem estar sempre presentes e com valores crescentes, de acordo com as suas concentrações relativas: BioB 1,5 pM; BioC 5 pM; BioD 25 pM e Cre 100 pM. Os valores desses controles das amostras em estudo estão dentro do esperado e representados nos gráficos das figuras a seguir (Figuras 18 a 20).

Figura 18 - Controles de hibridização bac_spike das amostras de 21 dias

Figura 19 - Controles de hibridização bac_spike das amostras de 3 meses

Figura 20 - Controles de hibridização bac_spike das amostras de 6 meses

Os RNAs exógenos poliadenilados Lys, Phe, Dap e Thr (*poly_spike*) servem para identificar problemas nas reações e devem estar presentes com valores crescentes na seguinte ordem: Lys, Phe, Dap e Thr. Os gráficos das figuras seguintes (Figuras 21 a 23) mostram esses valores, que estão de acordo com o esperado.

Figura 21 - Controles de RNA poly-A. Amostras de 21 dias

Figura 22 - Controles de RNA poly-A. Amostras de 3 meses

Figura 23 - Controles de RNA poly-A. Amostras de 6 meses

4.2. Distribuição dos sinais e normalização

O histograma de sinal mostra o padrão de distribuição dos sinais de intensidade e o padrão da curva formado pelos mesmos, servindo para identificar *outliers*. É esperado que a curva seja normal. As amostras apresentam um padrão de distribuição bem próximo à normal (Figuras 24 a 26).

Figura 24 - Histograma de intensidade de sinal das amostras de 21 dias, com padrão próximo à normal

Figura 25 - Histograma de intensidade de sinal das amostras de 3 meses, com padrão próximo à normal

Figura 26 - Histograma de intensidade de sinal das amostras de 6 meses, com padrão próximo à normal

A normalização dos dados faz a correção dos erros originados por diferenças técnicas e de intensidade de fluorescência dos fluoróforos. Para isso, foi utilizado o algoritmo RMA. Após a normalização, as médias dos *box plots* dos sinais de intensidade relativos devem ser zero ou próximas à zero, assim pode-se identificar *outliers*.

Os gráficos a seguir mostram os dados antes e depois da normalização, que corrigiu os dados de todos os 60 chips adequadamente (Figuras 27 a 29).

Figura 27 - Gráficos com intensidade dos agrupamentos de sondas antes (A) e depois (B) da normalização. Amostras de 21 dias

Figura 28 - Gráficos com intensidade dos agrupamentos de sondas antes (A) e depois (B) da normalização. Amostras de 3 meses

Figura 29 - Gráficos com intensidade dos agrupamentos de sondas antes (A) e depois (B) da normalização. Amostras de 6 meses

5. Triagem dos genes diferencialmente expressos

5.1. Número total de genes diferencialmente expressos

Para a seleção dos genes diferencialmente expressos foram feitas diversas combinações entre os grupos dentro de cada uma das idades.

Inicialmente, foram comparadas cada uma das linhagens, com o controle normal:

$Dmd^{mdx} \times C57BL$

$Large^{myd-/-} \times C57BL$

$Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-} \times C57BL$

Posteriormente, a linhagem $Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}$ foi comparada com cada uma das linhagens parentais:

$Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-} \times Dmd^{mdx}$

$Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-} \times Large^{myd-/-}$

Para cada combinação foi feita uma nova normalização usando o algoritmo RMA no programa *Expression Console™*. Os dados normalizados foram tratados no programa *MeV*. Primeiro os dados passaram por um filtro de variância para a remoção dos genes que não apresentaram variação entre as amostras. Este filtro faz uma classificação dos genes baseada no desvio padrão, mantendo apenas 50% dos genes com maior variação. Assim, dos 35556 genes presentes no microarranjo, foram mantidos 17778 genes.

Para a triagem dos genes diferencialmente expressos, o método estatístico escolhido foi o SAM (*Significance Analysis for Microarrays*), que é um teste para a análise de microarranjos amplamente utilizado. Foram feitas análises de duas classes não pareadas (cada classe é formada por cinco microarranjos de cada linhagem), com 5000 permutações e mediana do número de genes falso-positivos igual a zero. Os gráficos gerados estão nas figuras a seguir (Figuras 30 a 44).

Figura 30 - Análise *Dmd^{mdx}* vs *C57BL* 21 dias. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 75 genes identificados

Figura 31 - Análise *Large^{myd-/-}* vs *C57BL* 21 dias. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 142 genes identificados

Figura 32 - Análise *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* vs *C57BL* 21 dias. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 106 genes identificados

Figura 33 - Análise *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* vs *Dmd^{mdx}* 21 dias. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 185 genes identificados

Figura 34 - Análise *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* vs *Large^{myd-/-}* 21 dias. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 36 genes identificados

Figura 35 - Análise *Dmd^{mdx}* vs *C57BL* 3 meses. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 225 genes identificados

Figura 36 - Análise $Large^{myd-/-}$ vs $C57BL$ 3 meses. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 200 genes identificados

Figura 37 - Análise $Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}$ vs $C57BL$ 3 meses. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 350 genes identificados

Figura 38 - Análise $Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}$ vs Dmd^{mdx} 3 meses. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 58 genes identificados

Figura 39 - Análise $Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}$ vs $Large^{myd-/-}$ 3 meses. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 22 genes identificados

Figura 40 - Análise Dmd^{mdx} vs $C57BL$ 6 meses. Gráfico gerados após a análise estatística SAM; 508 genes identificados

Figura 41 - Análise $Large^{myd-/-}$ vs $C57BL$ 6 meses. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 291 genes identificados

Figura 42 - Análise $Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}$ vs $C57BL$ 3 meses. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 344 genes identificados

Figura 43 - Análise $Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}$ vs Dmd^{mdx} 6 meses. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 44 genes identificados

Figura 44 - Análise $Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}$ vs $Large^{myd/-}$ 6 meses. Gráfico gerado após a análise estatística SAM; 39 genes identificados

Na tabela abaixo (Tabela 20) estão reunidos os números de genes diferencialmente expressos (*probes* selecionadas pelo SAM) nas comparações com o controle, antes da anotação dos genes. As listas completas estão no Anexo A.

Tabela 20 - Totais de genes diferencialmente expressos em cada comparação e idade

Comparações	21 dias	3 meses	6 meses
<i>Dmd^{mdx}</i> x <i>C57BL</i>	750	225	508
<i>Large^{myd-/-}</i> x <i>C57BL</i>	142	200	291
<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> x <i>C57BL</i>	106	350	344
<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> x <i>Dmd^{mdx}</i>	185	58	44
<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> x <i>Large^{myd-/-}</i>	36	22	39

5.2. Classificação dos genes quanto ao aumento ou redução da expressão (em relação ao controle)

As listas de genes (com os respectivos valores de *fold change* em escala log2) de todos os pares foram então analisadas no programa IPA (*Ingenuity Pathway Analysis* - Ingenuity® Systems, www.ingenuity.com), que faz a anotação dos genes conhecidos e análises funcionais, baseadas na literatura. Assim, genes repetidos, com função desconhecida ou apenas predita são eliminados das listas, reduzindo o número total de genes (Tabela 21 e Figura 45).

Tabela 21 - Totais de genes diferencialmente expressos após a anotação. Em vermelho, os genes superexpressos; em verde, os genes subexpressos

Comparações	21 dias			3 meses			6 meses			Total*
<i>Dmd^{mdx}</i> x <i>C57BL</i>	↑651	↓18	669	↑209	↓0	209	↑399	↓69	468	577
<i>Large^{myd-/-}</i> x <i>C57BL</i>	↑124	↓4	128	↑157	↓26	183	↑213	↓64	277	343
<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> x <i>C57BL</i>	↑97	↓6	103	↑281	↓39	320	↑299	↓17	316	376

* Total de cada linhagem, excluindo-se os genes com *fold change* menores que +/- 1,0. Diagramas das figuras 54, 55 e 56.

Figura 45 - Totais de genes diferencialmente expressos após a anotação

Em todas as comparações o número de genes superexpressos é bem maior que o número de genes subexpressos.

É notável que a linhagem Dmd^{mdx} com 21 dias apresente um número total de genes muito maior que as demais linhagens. Aos três meses de idade, o camundongo Dmd^{mdx} não apresentou nenhum gene subexpresso.

Na idade de 21 dias, a quantidade de genes diferencialmente expressos difere muito entre as linhagens: é muito maior nos animais com fenótipo mais brando (Dmd^{mdx} - 669 genes) do que naqueles com o fenótipo mais grave ($Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}$ - 103 genes). Já nas idades de três e seis meses, as três linhagens apresentam quantidades de genes desregulados em quantidades mais próximas.

Nas linhagens $Large^{myd/-}$ e $Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}$ observa-se um aumento tanto do número total de genes como do número de genes superexpressos, com o avanço da idade.

5.3. Genes diferencialmente expressos – análise de genes de tecido muscular

Para aprofundar mais a análise, os dados foram submetidos a um filtro, determinando apenas genes com atividade já descrita no músculo esquelético, o que reduz o número de genes (Tabela 22 e Figura 46).

Tabela 22 - Número de genes diferencialmente expressos com expressão no tecido muscular. Em vermelho, os genes superexpressos; em verde, os genes subexpressos

Comparações	21 dias			3 meses			6 meses		
<i>Dmd^{mdx} x C57BL</i>	↑190	↓5	195	↑70	↓0	70	↑107	↓28	135
<i>Large^{myd-/-} x C57BL</i>	↑36	↓3	39	↑60	↓13	73	↑103	↓46	149
<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-} x C57BL</i>	↑27	↓4	31	↑116	↓18	134	↑130	↓14	144

Figura 46 - Número de genes diferencialmente expressos no tecido muscular

A proporção desses genes selecionados em relação ao total de genes não filtrados foi calculada e está na tabela a seguir:

Tabela 23 - Proporção de genes do tecido muscular em relação ao total de genes

Comparações	21 dias	3 meses	6 meses
<i>Dmd^{mdx} x C57BL</i>	29%	33%	29%
<i>Large^{myd-/-} x C57BL</i>	30%	40%	54%
<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-} x C57BL</i>	30%	42%	46%

6. Caracterização do processo distrófico

6.1. Genes diferencialmente expressos em todos os modelos distróficos e em todas as idades

As listas de genes diferencialmente expressos de todas as linhagens e idades foram sobrepostas, de forma que fosse possível identificar o conjunto de genes com padrão de expressão constante em relação à idade e/ou linhagem. A tabela 24 mostra o total de genes que tem expressão diferencial em todas as linhagens (comparadas com o controle) e em todas as idades (centro do diagrama¹ da Figura 47); todos estão superexpressos.

Os diagramas de Venn mostram os genes diferencialmente expressos unicamente em cada uma das linhagens e os genes que são comuns a duas ou a três linhagens simultaneamente. Na interseção dos conjuntos estão os genes característicos do processo distrófico. As moléculas únicas em cada uma das linhagens seriam as candidatas às especificidades das linhagens.

Figura 47 - Diagrama de Venn reunindo todos os genes diferencialmente expressos nas três idades de cada linhagem. No centro estão os genes compartilhados por todas as linhagens e idades

¹ Observação: na construção dos diagramas de Venn e demais análises feitas no programa IPA são consideradas apenas os genes com valores de fold change maiores que +/- 1,0. Como exemplo, para a linhagem Dmd^{mdx} de 21 dias (Figura 54), os iniciais 669 genes foram reduzidos para 491 (268+14+145+64).

Tabela 24 - 31 genes com expressão diferencial em todas as linhagens e idades

Símbolo	Entrez Gene Name
ANKRD1	ankyrin repeat domain 1 (cardiac muscle)
C1QB	complement component 1, q subcomponent, B chain
C3AR1	complement component 3a receptor 1
Ccl6	chemokine (C-C motif) ligand 6
CCL7	chemokine (C-C motif) ligand 7
Ccl9	chemokine (C-C motif) ligand 9
CD68	CD68 molecule
CTSS	cathepsin S
DPEP2	dipeptidase 2
Gp49a/Lilrb4	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B, member 4
GPNMB	glycoprotein (transmembrane) nmb
LGALS3	lectin, galactoside-binding, soluble, 3
LGMN	legumain
MMP12	matrix metalloproteinase 12 (macrophage elastase)
MPEG1	macrophage expressed 1
MS4A7	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 7
MS4A4A	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 4A
MS4A6A	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6A
Ms4a6c	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6C
MSR1	macrophage scavenger receptor 1
MT1H	metallothionein 1H
MYH3	myosin, heavy chain 3, skeletal muscle, embryonic
MYL4	myosin, light chain 4, alkali; atrial, embryonic
PCBD1	pterin-4 alpha-carbinolamine dehydratase/dimerization cofactor of hepatocyte nuclear factor 1 alpha
S100A4	S100 calcium binding protein A4
SERPINA3	serpin peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antitrypsin, antitrypsin), member 3
TIMP1	TIMP metalloproteinase inhibitor 1
TMEM8C	transmembrane protein 8C
TNNT2	troponin T type 2 (cardiac)
TUBB6	tubulin, beta 6 class V
Wfdc17	WAP four-disulfide core domain 17

6.2. Genes diferencialmente expressos em cada idade - Efeito da idade

Nos diagramas das Figuras 48, 49 e 50 estão representados os genes que são compartilhados por todas as linhagens em cada uma das idades estudadas. As áreas coloridas mostram os genes compartilhados especificamente em cada idade e em seguida os genes particulares (áreas hachuradas) são listados nas tabelas 25 a 27.

21 dias

Figura 48 - A: diagrama de Venn reunindo os genes diferencialmente expressos nas três linhagens com 21 dias. No centro estão os 63 genes compartilhados por todas as linhagens nessa idade. **B:** genes comuns a cada uma das idades; na área hachurada estão destacados os 17 genes com expressão diferencial em todas as linhagens somente na idade de 21 dias

Tabela 25 - 17 genes com expressão diferencial em todas as linhagens somente na idade de 21 dias

Símbolo	Entrez Gene Name
AKR1E2	aldo-keto reductase family 1, member E2
BAIAP2L1	BAI1-associated protein 2-like 1
CCNA2	cyclin A2
Ccnb1/Gm5593	cyclin B1
CDKN1A	cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (p21, Cip1)
CLEC4D	C-type lectin domain family 4, member D
CYBB	cytochrome b-245, beta polypeptide
FCER1G	Fc fragment of IgE, high affinity I, receptor for; gamma polypeptide
IGSF6	immunoglobulin superfamily, member 6
ITGAM	integrin, alpha M (complement component 3 receptor 3 subunit)
Milr1	mast cell immunoglobulin like receptor 1
MYH8	myosin, heavy chain 8, skeletal muscle, perinatal
PLEK	pleckstrin
PRG4	proteoglycan 4
R3HDML	R3H domain containing-like
SPP1	secreted phosphoprotein 1
VSIG4	V-set and immunoglobulin domain containing 4

*Todos superexpressos

3 meses

Figura 49 - A: diagrama de Venn reunindo os genes diferencialmente expressos nas três linhagens com 3 meses. No centro estão os 88 genes compartilhados por todas as linhagens nessa idade. **B:** genes comuns a cada uma das idades; na área hachurada estão destacados os 11 genes com expressão diferencial em todas as linhagens somente na idade de 3 meses

Tabela 26 - 11 genes com expressão diferencial em todas as linhagens somente na idade de 3 meses

Símbolo	Entrez Gene Name
5430435G22Rik	RIKEN cDNA 5430435G22 gene
CAPN6	calpain 6
CCDC141	coiled-coil domain containing 141
CLEC7A	C-type lectin domain family 7, member A
DCLK1	doublecortin-like kinase 1
FABP5	fatty acid binding protein 5 (psoriasis-associated)
PEG3	paternally expressed 3
RGS1	regulator of G-protein signaling 1
SLC11A1	solute carrier family 11 (proton-coupled divalent metal ion transporter), member 1
Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116
TUBB2B	tubulin, beta 2B class IIb

*Todos superexpressos

6 meses

Figura 50 - A: diagrama de Venn reunindo os genes diferencialmente expressos nas três linhagens com 6 meses. No centro estão os 127 genes compartilhados por todas as linhagens nessa idade. **B:** genes comuns a cada uma das idades; na área hachurada estão destacados os 55 genes com expressão diferencial em todas as linhagens somente na idade de 6 meses

Tabela 27 - 55 genes com expressão diferencial em todas as linhagens somente na idade de 6 meses

Símbolo	Entrez Gene Name
ANPEP	alanyl (membrane) aminopeptidase
ANXA4	annexin A4
ASB2	ankyrin repeat and SOCS box containing 2
ASB4	ankyrin repeat and SOCS box containing 4
C14orf37	chromosome 14 open reading frame 37
CAPG	capping protein (actin filament), gelsolin-like
CD48	CD48 molecule
CD53	CD53 molecule
CD300LD	CD300 molecule-like family member d
CFB	complement factor B
CILP	cartilage intermediate layer protein, nucleotide pyrophosphohydrolase
Clec4a1	C-type lectin domain family 4, member a1
COL3A1	collagen, type III, alpha 1
COL6A3	collagen, type VI, alpha 3
COL8A1	collagen, type VIII, alpha 1
CSF1R	colony stimulating factor 1 receptor
CSF2RB	colony stimulating factor 2 receptor, beta, low-affinity (granulocyte-macrophage)
CTSH	cathepsin H
CYP4F22	cytochrome P450, family 4, subfamily F, polypeptide 22
CYTH4	cytohesin 4
DAB2	Dab, mitogen-responsive phosphoprotein, homolog 2 (Drosophila)
EMB	embigin
FBLN7	fibulin 7
Fcrls	Fc receptor-like S, scavenger receptor
GRN	granulin
HGF	hepatocyte growth factor (hepapoietin A; scatter factor)
HLA-DQB1	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1
HLA-DRB1	major histocompatibility complex, class II, DR beta 1

HPSE	heparanase
HS3ST5	heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 5
Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204
LAYN	layilin
LCP1	lymphocyte cytosolic protein 1 (L-plastin)
LOX	lysyl oxidase
METTL11B	methyltransferase like 11B
MRC1	mannose receptor, C type 1
Ms4a6b	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6B
MSTN	myostatin
MT1E	metallothionein 1E
MYO5A	myosin VA (heavy chain 12, myoxin)
NCKAP1L	NCK-associated protein 1-like
Nxpe5	neurexophilin and PC-esterase domain family, member 5
OSTN	osteocrin
PDPN	podoplanin
PLD4	phospholipase D family, member 4
PLTP	phospholipid transfer protein
PLXNB2	plexin B2
PTPRC	protein tyrosine phosphatase, receptor type, C
RGS10	regulator of G-protein signaling 10
SFRP1	secreted frizzled-related protein 1
SLC9A9	solute carrier family 9, subfamily A (NHE9, cation proton antiporter 9), member 9
STAB1	stabilin 1
TLR1	toll-like receptor 1
TMEM176B	transmembrane protein 176B
UNC93B1	unc-93 homolog B1 (C. elegans)

*Alguns genes subexpressos (em verde)

6.3. Classificação funcional

Genes coexpressos tem maior probabilidade de participarem de um mesmo processo biológico e serem regulados por um mesmo promotor (Allocco, Kohane e Butte, 2004); assim, o agrupamento desses genes e a análise das funções por eles desempenhadas são úteis na identificação das funções e processos biológicos que estão desregulados no tecido estudado.

6.3.1. Análise de vias enriquecidas

Os genes diferencialmente expressos, em relação ao animal controle, foram avaliados quanto às vias biológicas que pudessem estar enriquecidas. Essa análise foi feita no programa *Expander*, utilizando-se o total de genes, com a ferramenta que identifica as vias biológicas do banco de dados *Kegg Pathways* mais significantes.

Animais jovens – 21 dias

A análise dos 669 genes diferencialmente expressos nos animais *Dmd^{mdx}* com 21 dias de idade mostraram o enriquecimento majoritário de vias relacionadas com o sistema imunológico (Tabela 28). Destacam-se também as vias "Cell cycle", "p53 signaling pathway" e "DNA replication", o que indica que há a ativação da proliferação celular.

A via "Lysosome" foi a mais significativa de todas, o que pode ter relação com a degradação proteica devido à degeneração do tecido.

Tabela 28 - Vias biológicas *Dmd^{mdx}* vs *C57BL* 21 dias

Enriquecido com	#genes	p-value bruto	p-value corrigido	Lista de genes
Lysosome	26	4.44E-19	5.55E-17	[Ctsb, Hexb, Hexa, Ctsc, Ctsh, Galns, Pla2g15, Galc, Ctss, Cd63, Asah1, Ctsz, Laptm5, Glb1, Lgmn, Tcirg1, Lipa, Slc11a1, Gusb, Cd68, Ppt1, Psap, Man2b1, Gla, Atp6v0d2, Fuca1]
Chemokine signaling pathway	25	2.99E-13	6.21E-11	[Pik3r5, Arrb2, Cxcl10, Ccr5, Ccr3, Ccr2, Dock2, Cx3cr1, Vav1, Pf4, Ccl3, Ccl2, Ppbp, Ncf1, Ccr1, Ccl9, Ccl8, Pik3cg, Cxcl9, Fgr, Hck, Ccl7, Cxcl16, Prkcd, Ccl6]
Cytokine-cytokine receptor interaction	27	7.94E-12	2.03E-09	[Csf1r, Il13ra1, Csf3r, Pdgfc, Tnfrsf1b, Cx3cr1, Ccl3, Ccl2, Ppbp, Ccr1, Ccl9, Ccl8, Ccl7, Cxcl16, Ccl6, Csf2ra, Cxcl10, Ccr5, Ccr3, Ccr2, Csf2rb, Pf4, Hgf, Il7r, Cxcl9, Il10ra, Tnfrsf11a]

Systemic lupus erythematosus	21	2.69E-11	4.95E-09	[Hist1h2ab, Hist1h3a, Fcgr2b, Hist1h2bb, Hist1h2af, C1qa, C1qb, Hist1h3g, Hist2h3b, Hist2h2bb, Hist1h2ap, H2-Ab1, C1qc, H2-Aa, Hist2h3c1, H2-Eb1, Fcgr4, Hist1h2ak, Fcgr1, Fcgr3, Hist1h2an]
Toll-like receptor signaling pathway	15	5.35E-09	5.67E-07	[Pik3r5, Cxcl10, Cd14, Irf5, Irf7, Tlr1, Myd88, Tlr6, Tlr7, Tlr8, Ccl3, Pik3cg, Cxcl9, Ticam2, Spp1]
Other glycan degradation	7	2.35E-08	4.22E-07	[Hexb, Hexa, Man2b2, Man2b1, Fuca2, Fuca1, Glb1]
Cell cycle	16	2.72E-08	3.81E-06	[Ccne1, Cdk1, Mad2l1, Plk1, Cdkn1a, Cdk6, Ccnb1, Ccna2, Mcm4, Ccnb2, Mcm6, Bub1b, Pcn1, Bub1, Chek1, Dbf4]
Complement and coagulation cascades	12	8.70E-08	6.70E-06	[Pros1, C3ar1, Serpine1, C5ar1, F10, F5, C1qc, C1qa, C1qb, F7, F13a1, Cfb]
p53 signaling pathway	11	3.12E-07	2.43E-05	[Ccne1, Cdk1, Serpine1, Thbs1, Casp3, Rrm2, Chek1, Cdkn1a, Cdk6, Ccnb1, Ccnb2]
Hematopoietic cell lineage	12	3.14E-07	2.77E-05	[Csf2ra, Csf1r, Csf3r, Cd14, Itga4, Il7r, H2-Eb1, Cd44, Itgam, Fcgr1, Cd33, Anpep]
Natural killer cell mediated cytotoxicity	14	8.67E-07	1.15E-04	[Pik3r5, Casp3, Sh2d1b1, H2-D1, Sh3bp2, Vav1, Cd48, Fcgr1g, Tyrobp, Lcp2, Fcgr4, Itgb2, Pik3cg, Fcgr3]
Fc gamma R-mediated phagocytosis	12	1.09E-06	1.16E-04	[Fcgr2b, Pik3r5, Ppap2c, Ncf1, Ptprc, Dock2, Pik3cg, Fcgr1, Inpp5d, Vav1, Hck, Prkcd]
Sphingolipid metabolism	8	2.19E-06	9.87E-05	[Acer3, B4galt6, Ppap2c, Asah1, Sgpl1, Gla, Galc, Glb1]
Metabolic pathways	49	6.29E-06	0.0079	[Aldh1a2, Sat1, Pole2, Hexb, Prim1, Hexa, Galns, Galm, Akr1e1, Rrm2, Gda, Alox15, Galc, Eno1, Arg1, Gnpda1, Bst1, Tcms, Cbr2, Asah1, Sgpl1, Anpep, Atp6v1a, Pgd, Glb1, B4galt6, Hk3, Tcirg1, G6pdx, Ppap2c, Cyp4f18, Bcl2a1b, P4ha3, Pla2g7, Tbxas1, Ada, Aldh9a1, Akr1b8, Hpgds, Psat1, Gusb, Hsd17b12, Asns, Pgam1, Hpse, Aldh3b1, Ppt1, Ugt1a9, Atp6v0d2]
Cell adhesion molecules (CAMs)	14	6.31E-06	0.00107	[Ncam1, H2-Ab1, Itga4, Ptprc, Vcan, H2-Aa, Alcam, H2-D1, H2-Eb1, Itgb2, Cdh2, Selplg, Itgam, Siglec1]
Glycosaminoglycan degradation	6	8.19E-06	2.05E-04	[Hexb, Gusb, Hexa, Hpse, Galns, Glb1]
Amino sugar and nucleotide sugar metabolism	7	4.60E-05	0.00212	[Hk3, Gnpda1, Npl, Hexb, Hexa, Renbp, Nagk]
DNA replication	6	1.05E-04	0.004	[Dna2, Pole2, Prim1, Pcn1, Mcm4, Mcm6]
Leukocyte transendothelial migration	10	3.11E-04	0.0388	[Pik3r5, Ncf2, Ncf1, Itga4, Itgb2, Pik3cg, Itgam, Cyba, Vav1, Cybb]
B cell receptor signaling pathway	8	3.21E-04	0.028	[Fcgr2b, Pik3r5, Btk, Pik3cg, Pik3ap1, Inpp5d, Vav1, Lirb3]
Fc epsilon RI signaling pathway	8	4.16E-04	0.0362	[Pik3r5, Fcgr1g, Btk, Lcp2, Pik3cg, Inpp5d, Vav1, Prkcd]

ECM-receptor interaction	8	4.52E-04	0.0389	[Hmnr, Thbs1, Fn1, Npnt, Itga4, Cd44, Tnc, Spp1]
Primary immunodeficiency	5	0.00109	0.0427	[Dclre1c, Ptprc, Btk, Ada, Il7r]

As linhagens *Large^{myd/-}* (128 GDEs) e *Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}* (103 GDEs) também apresentam enriquecimento de vias do sistema imunológico (Tabelas 29 e 30).

Tabela 29 - Vias biológicas *Large^{myd/-}* vs *C57BL* 21 dias

Enriquecido com	#genes	p-value bruto	p-value corrigido	Lista de genes
Cytokine-cytokine receptor interaction	8	3.98E-06	0.00101	[Ccl3, Ccl2, Cxcl10, Ccl9, Il7r, Ccl8, Ccl7, Ccl6]
Chemokine signaling pathway	7	5.44E-06	0.00113	[Ccl3, Ccl2, Cxcl10, Ccl9, Ccl8, Ccl7, Ccl6]
Antigen processing and presentation	4	3.81E-04	0.04	[Lgmn, Ctss, H2-Aa]
Asthma	3	1.09E-04	0.00394	[Fcer1g, H2-Aa]

Tabela 30 - Vias biológicas *Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}* vs *C57BL* 21 dias

Enriquecido com	#genes	p-value bruto	p-value corrigido	Lista de genes
Chemokine signaling pathway	7	1.84E-06	3.80E-04	[Ccl3, Ccl2, Ccr1, Ccl9, Cxcl13, Ccl7, Ccl6]
Cytokine-cytokine receptor interaction	7	1.34E-05	0.00341	[Ccl3, Ccl2, Ccr1, Ccl9, Cxcl13, Ccl7, Ccl6]
Complement and coagulation cascades	4	9.70E-05	0.00737	[C3ar1, Serpine1, C5ar1, C1qb]

Animais adultos - 3 meses

Aos três meses de idade (209 GDEs), as vias biológicas encontradas no *Dmd^{mdx}* são praticamente as mesmas da idade anterior, porém as vias correlacionadas com a proliferação celular já não aparecem mais (Tabela 31).

Tabela 31 - Vias biológicas *Dmd^{mdx}* vs *C57BL* 3 meses

Enriquecido com	#genes	p-value bruto	p-value corrigido	Lista de genes
Chemokine signaling pathway	7	6.33E-08	1.33E-05	[Ccl3, Ccl2, Ccr5, Ccl9, Ccl8, Cxcl16, Ccl7]
Lysosome	7	1.30E-07	1.66E-05	[Ctss, Hexb, Lipa, Ctsh, Cd68, Laptm5, Atp6v0d2]
Cytokine-cytokine receptor interaction	7	4.94E-07	1.28E-04	[Ccl3, Ccl2, Ccr5, Ccl9, Ccl8, Cxcl16, Ccl7]
Antigen processing and presentation	6	6.36E-07	6.87E-05	[Ifi30, Ctss, H2-Ab1, H2-Aa, H2-Eb1, Cd74]
Asthma	4	1.41E-06	5.51E-05	[H2-Ab1, Fcer1g, H2-Aa, H2-Eb1]

Systemic lupus erythematosus	6	1.30E-05	0.00242	[Fcgr2b, H2-Ab1, H2-Aa, H2-Eb1, Fcgr4, Fcgr3]
Complement and coagulation cascades	4	1.43E-05	0.00113	[C3ar1, C1qc, C1qa, C1qb]
Cytokine-cytokine receptor interaction	7	1.90E-05	0.00491	[Csf1r, Il13ra1, Hgf, Ccr2, Il7r, Il10ra, Ccl6]
Prion diseases	3	4.41E-05	0.00185	[C1qc, C1qa, C1qb]
Natural killer cell mediated cytotoxicity	5	6.96E-05	0.0094	[Fcer1g, Tyrobp, Fcgr4, Cd48, Fcgr3]
Leukocyte transendothelial migration	3	8.77E-05	0.0111	[Itgb2, Itgam, Cybb]
Cell adhesion molecules (CAMs)	5	1.52E-04	0.0261	[H2-Ab1, H2-Aa, Alcam, H2-Eb1, Siglec1]
Cell adhesion molecules (CAMs)	3	1.74E-04	0.0297	[Ptprc, Itgb2, Itgam]
Systemic lupus erythematosus	4	2.30E-04	0.0429	[C1qc, C1qa, C1qb, Fcgr1]
Toll-like receptor signaling pathway	4	3.61E-04	0.039	[Tlr1, Tlr7, Tlr8, Spp1]
Steroid biosynthesis	2	0.00146	0.0306	[Lipa, Soat1]

O enriquecimento de vias do sistema imunológico se mantém nas linhagens *Large^{myd-/-}* (183 GDEs) e *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* (320 GDEs) aos três meses de idade, com a adição da via "Lysosome" (Tabelas 32 e 33).

Tabela 32 - Vias biológicas *Large^{myd-/-}* vs *C57BL* 3 meses

Enriquecido com	#genes	p-value bruto	p-value corrigido	Lista de genes
Lysosome	8	9.08E-08	1.13E-05	[Lgmn, Ctss, Lipa, Cd68, Ctsz, Laptm5, Atp6v0d2, Slc11a1]
Cytokine-cytokine receptor interaction	10	3.05E-07	7.82E-05	[Ccl3, Ccl2, Il13ra1, Ccr5, Ccl9, Il7r, Ccl8, Cxcl16, Ccl7, Ccl6]
Chemokine signaling pathway	8	2.69E-06	5.60E-04	[Ccl3, Ccl2, Ccr5, Ccl9, Ccl8, Cxcl16, Ccl7, Ccl6]
Antigen processing and presentation	6	5.08E-06	5.39E-04	[Lgmn, Ifi30, Ctss, H2-Aa, Cd74]
Prion diseases	4	2.32E-05	9.30E-04	[Ncam1, C1qc, C1qa, C1qb]
Complement and coagulation cascades	5	3.05E-05	0.00235	[C3ar1, C1qc, C1qa, C1qb, Cfb]

Tabela 33 - Vias biológicas *C57BL* vs *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* 3 meses

Enriquecido com	#genes	p-value bruto	p-value corrigido	Lista de genes
Cytokine-cytokine receptor interaction	18	1.11E-11	2.84E-09	[Csf1r, Il13ra1, Ccr5, Ccr2, Csf2rb, Tnfrsf1b, Ccl3, Hgf, Ccl2, Il7r, Ccl9, Ccl8, Cxcl9, Il10ra, Cxcl16, Ccl7, Ccl6, Csf2rb2]
Lysosome	13	4.51E-11	5.64E-09	[Lgmn, Hexb, Lipa, Ctsh, Slc11a1, Ctss, Gusb, Cd68, Man2b1, Ctsz, Laptm5, Gla, Atp6v0d2]

Systemic lupus erythematosus	12	1.56E-08	2.87E-06	[Fcgr2b, , H2-Ab1, C1qc, H2-Aa, C1qa, H2-Eb1, C1qb, C1ra, Fcgr4, Fcgr1, Fcgr3]
Complement and coagulation cascades	8	3.86E-07	2.97E-05	[Pros1, C3ar1, C5ar1, C1qc, C1qa, C1qb, C1ra, Cfb]
Antigen processing and presentation	8	1.72E-06	1.82E-04	[Lgmn, Ifi30, Ctss, H2-Ab1, H2-Aa, H2-Eb1, Cd74]
Asthma	5	2.60E-06	9.61E-05	[H2-Ab1, Fcgr1g, H2-Aa, H2-Eb1]
Chemokine signaling pathway	10	6.12E-06	0.00127	[Ccl3, Ccl2, Ccr5, Ccr2, Ccl9, Ccl8, Cxcl9, Cxcl16, Ccl7, Ccl6]
Hematopoietic cell lineage	6	1.13E-04	0.00994	[Csf1r, Il7r, H2-Eb1, Fcgr1, Anpep]
Prion diseases	4	2.69E-04	0.0108	[Ncam1, C1qc, C1qa, C1qb]
Glycosaminoglycan degradation	3	0.00112	0.0279	[Hexb, Gusb, Hpse]

Animais adultos - 6 meses

Aos seis meses de idade (468 GDEs), as vias biológicas encontradas no *Dmd^{mdx}* são praticamente as mesmas da idade de três meses, variando apenas a ordem de significância de algumas vias (Tabela 34).

Tabela 34 - Vias biológicas *Dmd^{mdx}* vs *C57BL* 6 meses

Enriquecido com	#genes	p-value bruto	p-value corrigido	Lista de genes
Lysosome	19	8.99E-16	1.12E-13	[Lgmn, Tcirg1, Hexb, Lipa, Ctsb, Ctsc, Ctsh, Slc11a1, Ctss, Gusb, Cd63, Asah1, Cd68, Ppt1, Ctsz, Laptm5, Gla, Atp6v0d2, Fuca1]
Cytokine-cytokine receptor interaction	20	9.49E-11	2.43E-08	[Csf1r, Il13ra1, Ccr5, Ccr2, Csf2rb, Tnfrsf1b, Cx3cr1, Egfr, Ccl3, Hgf, Ccl2, Il7r, Ccl9, Ccl8, Il10ra, Cxcl16, Il10rb, Ccl7, Tgfb1, Ccl6]
Antigen processing and presentation	10	3.17E-07	3.36E-05	[Lgmn, Ifi30, Ctss, Ctsb, H2-DMa, H2-Ab1, Pdla3, H2-Aa, H2-Eb1, Cd74]
Systemic lupus erythematosus	12	8.60E-07	1.58E-04	[Fcgr2b, H2-DMa, H2-Ab1, C1qc, H2-Aa, C1qa, H2-Eb1, C1qb, Fcgr4, Fcgr1, Cd80, Fcgr3]
Chemokine signaling pathway	12	5.01E-06	0.00104	[Ccl3, Ccl2, Ccr5, Ccr2, Dock2, Ccl9, Ccl8, Cx3cr1, Pak1, Cxcl16, Ccl7, Ccl6]
Complement and coagulation cascades	8	6.11E-06	4.70E-04	[C3ar1, C5ar1, C1qc, Plau, C1qa, C1qb, F13a1, Cfb]
Asthma	5	1.57E-05	5.82E-04	[H2-DMa, H2-Ab1, Fcgr1g, H2-Aa, H2-Eb1]
Fc gamma R-mediated phagocytosis	8	3.25E-05	0.00348	[Fcgr2b, Marcks, Ptprc, Dock2, Pak1, Fcgr1, Inpp5d, Arpc1b]
Propanoate metabolism	3	3.39E-05	0.00112	[Acss2, Ldhb, Acss1]
Toll-like receptor signaling pathway	8	5.08E-05	0.00538	[Ccl3, Cd14, Irf7, Tlr1, Tlr7, Cd80, Tlr8, Tlr9]
Pyruvate metabolism	3	8.76E-05	0.00394	[Acss2, Ldhb, Acss1]
Hematopoietic cell lineage	7	1.16E-04	0.0102	[Csf1r, Cd14, Il7r, H2-Eb1, Cd44, Fcgr1, Anpep]

Cell adhesion molecules (CAMs)	9	1.64E-04	0.0277	[H2-DMa, H2-Ab1, Ptpcr, Vcan, H2-Aa, Alcam, H2-Eb1, Siglec1, Cd80]
Sphingolipid metabolism	5	1.66E-04	0.00747	[Acer3, B4galt6, Asah1, Sgpl1, Gla]
Natural killer cell mediated cytotoxicity	8	2.70E-04	0.0359	[Fcer1g, Sh2d1b1, Tyrobp, Fcgr4, Pak1, Sh3bp2, Cd48, Fcgr3]
Glycolysis / Gluconeogenesis	3	2.74E-04	0.0337	[Acss2, Ldhd, Acss1]

Nas linhagens *Large*^{myd^{-/-}} (277 GDEs) e *Dmd*^{mdx}/*Large*^{myd^{-/-}} (316 GDEs), as vias enriquecidas também são bem semelhantes ao visto aos três meses de idade, continuando o prevalecimento de vias do sistema imunológico (Tabelas 35 e 36).

Tabela 35 - Vias biológicas *Large*^{myd^{-/-}} vs *C57BL* 6 meses

Enriquecido com	#genes	p-value bruto	p-value corrigido	Listas de genes
Systemic lupus erythematosus	15	5.89E-13	1.08E-10	[Fcgr2b, C3, C4b, C1qa, Cd86, C1ra, C1s, C1qb, Cd80, H2-Ab1, C1qc, H2-DMb2, H2-Aa, H2-Eb1]
Cytokine-cytokine receptor interaction	17	4.60E-12	1.18E-09	[Csf1r, Il13ra1, Ccr5, Csf2rb, Il1r1, Il2rg, Hgf, Il7r, Ccl9, Ccl8, Ccl5, Cxcl13, Cxcl16, Ccl7, Ccl6, Csf2rb2]
Complement and coagulation cascades	11	8.97E-12	6.91E-10	[Cfh, C3ar1, Cfd, C1qc, C3, C4b, C1qa, C1qb, C1s, C1ra, Cfb]
Cell adhesion molecules (CAMs)	11	1.68E-08	2.84E-06	[Selp, H2-Ab1, H2-DMb2, Ptpcr, H2-Aa, Cd86, H2-Eb1, Siglec1, Cd80, Glycam1]
Antigen processing and presentation	9	2.58E-08	2.73E-06	[Lgmn, Ifi30, Ctss, H2-Ab1, H2-DMb2, H2-Aa, H2-Eb1, Cd74]
Graft-versus-host disease	7	1.64E-07	1.18E-05	[H2-Ab1, H2-DMb2, H2-Aa, Cd86, H2-Eb1, Cd80]
Allograft rejection	7	1.64E-07	1.18E-05	[H2-Ab1, H2-DMb2, H2-Aa, Cd86, H2-Eb1, Cd80]
Hematopoietic cell lineage	8	2.10E-07	1.85E-05	[Csf1r, Cd14, Il7r, H2-Eb1, Il1r1, Anpep, Cd3g]
Type I diabetes mellitus	7	3.02E-07	2.33E-05	[H2-Ab1, H2-DMb2, H2-Aa, Cd86, H2-Eb1, Cd80]
Autoimmune thyroid disease	7	8.81E-07	7.76E-05	[H2-Ab1, H2-DMb2, H2-Aa, Cd86, H2-Eb1, Cd80]
Asthma	5	9.91E-07	3.67E-05	[H2-Ab1, H2-DMb2, H2-Aa, H2-Eb1]
Chemokine signaling pathway	10	1.06E-06	2.20E-04	[Ccr5, Dock2, Ccl9, Ccl8, Ccl5, Cxcl13, Cxcl16, Ccl7, Ccl6]
Prion diseases	5	5.70E-06	2.28E-04	[Egr1, C1qc, C1qa, C1qb, Ccl5]
Toll-like receptor signaling pathway	7	9.76E-06	0.00103	[Cd14, Tlr1, Cd86, Ccl5, Tlr7, Cd80, Tlr8]
Lysosome	6	2.29E-04	0.0287	[Lgmn, Ctss, Lipa, Ctsh, Cd68, Laptm5]

Tabela 36 - Vias biológicas *Dmd^{mdx} / Large^{myd-/-}* vs *C57BL* 6 meses

Enriquecido com	#genes	p-value bruto	p-value corrigido	Lista de genes
Cytokine-cytokine receptor interaction	22	7.54E-15	1.93E-12	[Csf1r, Il13ra1, Ccr5, Ccr2, Csf2rb, Tnfrsf1b, Egfr, Il1r1, Pf4, Ccl3, Hgf, Ccl2, Osmr, Ccl9, Il7r, Ccl8, Cxcl14, Il10ra, Cxcl16, Ccl7, Csf2rb2, Ccl6]
Complement and coagulation cascades	14	2.38E-14	1.83E-12	[Pros1, Cfh, C7, C5ar1, C4b, C1qa, C1ra, C1s, C1qb, F13a1, C3ar1, Serpine1, C1qc, Cfb]
Systemic lupus erythematosus	15	4.51E-11	8.30E-09	[Fcgr2b, C7, C4b, C1qa, C1qb, C1ra, C1s, Cd80, H2-Ab1, C1qc, H2-Aa, H2-Eb1, Fcgr4, Fcgr1, Fcgr3]
Hematopoietic cell lineage	9	1.69E-07	1.49E-05	[Csf1r, Cd14, Il7r, H2-Eb1, Cd44, Itgam, Fcgr1, Il1r1, Anpep]
Chemokine signaling pathway	11	2.32E-06	4.83E-04	[Pf4, Ccl3, Ccl2, Ccr5, Ccr2, Ccl9, Ccl8, Cxcl14, Cxcl16, Ccl7, Ccl6]
Lysosome	9	2.65E-06	3.32E-04	[Lgmn, Ctss, Lipa, Ctsh, Cd68, Ctsk, Laptm5, Atp6v0d2, Slc11a1]
Cell adhesion molecules (CAMs)	9	2.15E-05	0.00363	[Ncam1, H2-Ab1, Ptprc, Vcan, H2-Aa, H2-Eb1, Itgb2, Itgam, Cd80]
Prion diseases	5	2.46E-05	9.83E-04	[Ncam1, C7, C1qc, C1qa, C1qb]
Antigen processing and presentation	7	3.69E-05	0.00391	[Lgmn, Ifi30, Ctss, H2-Ab1, H2-Aa, H2-Eb1, Cd74]
Toll-like receptor signaling pathway	7	6.76E-05	0.00716	[Ccl3, Cd14, Tlr1, Tlr4, Tlr7, Cd80, Tlr8]
Asthma	4	1.05E-04	0.00389	[H2-Ab1, Fcer1g, H2-Aa, H2-Eb1]

6.3.2. Anotação funcional dos genes de acordo com o Gene Ontology

As tabelas no Anexo B mostram as funções (*Gene Ontology* - *GO*) enriquecidas nas listas de genes diferencialmente expressos. Foram selecionadas apenas as funções com $FDR < 20$, $p\text{-value} < 0,05$. Por conta da redundância e proximidade de muitos termos, foi feito um agrupamento manual das mesmas em categorias mais amplas para sabermos como elas se distribuem; e pela grande representação de funções relacionadas com a resposta imunológica, as demais funções foram separadas em gráficos diferentes para melhor visualização (Figuras 51, 52 e 53).

Animais jovens – 21 dias

No animal *Dmd^{mdx}* com 21 dias de idade foram identificadas 221 funções enriquecidas, das quais 55% remetem diretamente a mecanismos do sistema imune e inflamação (Figura 51 A), e 27% são relacionadas ao ciclo celular, síntese de DNA e morte celular. Quando se exclui as funções do sistema imune/inflamação, nota-se que as funções mais enriquecidas são as do ciclo celular e metabolismo (Figura 51 B).

No animal *Large^{myd-/-}* com 21 dias de idade foram encontradas 62 funções enriquecidas. Destas, 82% têm relação com funções características do sistema imune e inflamação; 10% representam funções da matriz extracelular (ECM) e adesão (Figura 51 C). Pelo gráfico da Figura 51 D, vemos que, as funções da ECM e adesão perfazem 55% do total quando são excluídas as funções imunológicas.

Assim como suas linhagens parentais, a linhagem *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* também mostra a presença majoritária de funções do sistema imune/inflamação: das 60 funções identificadas, 72% são dessa categoria. Destacam-se também os 13% de funções de atividade enzimática/proteólise (Figura 51 E).

Removendo os 72% de resposta imunológica, ficam destacadas as categorias de atividade enzimática/proteólise, matriz extracelular e adesão e fagocitose (Figura 51 F).

Animais com 21 dias

Figura 51 - Categorias de funções biológicas enriquecidas nos animais de 21 dias. A, C e E: distribuição de todas as categorias. B, D e F: distribuição das categorias sem contar as funções do sistema imune e inflamação

Idade de 3 meses

Aos três meses de idade, a linhagem *Dmd^{mdx}* apresentou uma predominância maior das funções da categoria sistema imune/inflamação (Figura 52 A). No gráfico da figura 52 B vemos que as funções de ciclo celular reduzem drasticamente e as de ECM e adesão ganham destaque.

Na linhagem *Large^{myd-/-}* com três meses de idade, o enriquecimento das funções do sistema imune e inflamação reduz de 82% para 56% (Figura 52 C); e há aumento da representação das funções de matriz extracelular e adesão (Figura 52 D).

A resposta imune representa 71% do total das funções enriquecidas no animal duplo-mutante com três meses de idade, de forma semelhante à idade de 21 dias (Figura 52 E). A categoria atividade enzimática/proteólise perde parte de sua representação, caindo de 47% para 17% quando analisamos a distribuição das categorias excluindo a de sistema imune e inflamação (Figura 52 F).

Animais com 3 meses

Figura 52 - Categorias de funções biológicas enriquecidas nos animais de três meses. A, C e E: distribuição de todas as categorias. B, D e F: distribuição das categorias sem contar as funções do sistema imune e inflamação

Idade de 6 meses

Aos seis meses de idade, no camundongo *Dmd^{mdx}* continuam prevalecendo as funções do sistema imunológico (Figura 53 A). Dentre as demais categorias funcionais, vemos que a de ECM e adesão diminui em relação à idade de três meses (Figura 53 B).

Na linhagem *Large^{myd-/-}* com seis meses de idade, a categoria sistema imune e inflamação tem maior representação que aos três meses, mas ainda é um pouco menor que aos 21 dias (Figura 53 C). Dentre as demais categorias, a de ECM e adesão e atividade enzimática/proteólise permanecem iguais ao visto aos três meses, ao passo que a de metabolismo aumenta de 6% para 23% (Figura 53 D).

Aos seis meses, no camundongo *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}*, as funções envolvidas com a resposta imunológica atingem o maior percentual de representação, com 84% das 161 funções identificadas na análise computacional (Figura 53 E). Na análise das demais categorias, a de atividade enzimática aumenta um pouco em comparação à idade de três meses, mas é menor ao visto aos 21 dias (Figura 53 F).

Animais com 6 meses

Figura 53 - Categorias de funções biológicas enriquecidas nos animais de seis meses. A, C e E: distribuição de todas as categorias. B, D e F: distribuição das categorias sem contar as funções do sistema imune e inflamação

7. Caracterização do perfil de cada linhagem

7.1. Análise do número de genes diferencialmente expressos - evolução de cada linhagem

As listas de genes diferencialmente expressos obtidas para as três idades de cada linhagem foram sobrepostas para sabermos quantos genes estão sempre alterados em cada linhagem e especificamente nas idades. Os resultados estão ilustrados nos diagramas de Venn das figuras a seguir. A análise do $Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}$ está mais detalhada em seguida.

Na linhagem Dmd^{mdx} , observamos uma redução dos genes específicos da linhagem com o avanço da idade (268 - 3 - 72) (Figura 54), enquanto no $Large^{myd/-}$ (27 - 35 - 156) (Figura 55) e $Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}$ (22-63-66) aumenta (Figura 56).

Dmd^{mdx}

Figura 54 - Diagrama de Venn com o número de genes diferencialmente expressos nas três idades da linhagem Dmd^{mdx}

$Large^{myd/-}$

Figura 55 - Diagrama de Venn com o número de genes diferencialmente expressos nas três idades da linhagem $Large^{myd/-}$

Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}

Figura 56 - Diagrama de Venn com o número de genes diferencialmente expressos nas três idades da linhagem *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}*

7.2. Redes gênicas – genes exclusivos de cada linhagem

Os genes particulares de cada linhagem (partes externas dos diagramas A da seção 6.2) foram analisados quanto às possíveis interações que eles possam ter entre si e com outros genes com a ajuda do programa IPA. Apresentamos as redes que tiveram maior significância.

A intensidade de cor das moléculas indica o grau de aumento (vermelho) ou diminuição (verde) de expressão. As moléculas sem cor não foram identificadas como diferencialmente expressas nos experimentos, mas foram adicionadas pelo programa com base em bancos de dados, indicando que elas são relevantes no contexto da rede construída.

Com os 388 genes que estão com expressão diferencial apenas nos animais *Dmd^{mdx}* com 21 dias (diagrama A da Figura 48) foi possível gerar 25 redes significativas. Apresentamos a que obteve o maior *score* e que envolve o maior número de genes (Figura 57).

Figura 57 - Rede mais significativa do camundongo *Dmd^{mdx}* com 21 dias. *Score*: 61; 33 genes selecionados. Categorias envolvidas: Ciclo celular; Organização celular; Replicação, recombinação e reparo de DNA

Os 25 genes do *Dmd^{mdx}* formaram cinco redes; na figura 58 está a principal rede construída, que integra 12 genes.

Figura 58 - Rede mais significativa do camundongo *Dmd^{mdx}* com 3 meses. *Score*: 29; 12 genes selecionados. Categorias envolvidas: Sinalização e interação célula-célula; Desenvolvimento e função do sistema hematológico; Tráfego de células imunes

Para os 86 genes diferencialmente expressos no *Dmd^{mdx}* com seis meses, a análise retornou seis redes; a com maior score está na Figura 59.

Figura 59 - Rede mais significativa do camundongo *Dmd^{mdx}* com 6 meses. *Score*: 37; 18 genes selecionados. Categorias envolvidas: Metabolismo de lipídio; Transporte molecular; Bioquímica de moléculas pequenas

Large^{myd-/-}

Com os oito genes do *Large*^{myd} (diagrama A da figura 48), o programa conseguiu formar quatro redes; a figura 60 mostra a rede mais significativa que integra três genes.

Figura 60 - Rede mais significativa do camundongo *Large*^{myd-/-} com 21 dias. *Score*: 7; 3 genes selecionados. Categorias envolvidas: Morfologia tecidual; Desenvolvimento celular; Desenvolvimento e função do sistema hematológico

Com a análise dos seis genes do *Large^{myd-/-}* foram formadas três redes; a que tem o maior *score* está na Figura 61.

Figura 61 - Rede mais significativa do camundongo *Large^{myd-/-}* com 3 meses. *Score*: 10; 4 genes selecionados. Categorias envolvidas: Desenvolvimento e função do tecido conectivo; Morfologia tecidual; Morte e sobrevivência celular

A Figura 62 mostra a rede mais significativa (total de oito redes) formada com a análise dos 81 genes do *Large^{myd^{-/-}}* com seis meses de idade (diagrama 1, Figura 50).

© 2000-2014 Ingenuity Systems, Inc. All rights reserved.

Figura 62 - Rede mais significativa do camundongo *Large^{myd^{-/-}}* com 6 meses. *Score*: 62; 26 genes selecionados. Categorias envolvidas: Doença metabólica; Resposta inflamatória; Doenças do tecido conectivo

Dmd^{mdx}/Large^{myd}-/-

Na Figura 63, ilustramos a rede mais significativa (total de quatro redes) que foi gerada a partir da análise dos 12 genes do duplo-mutante de 21 dias (diagrama A da figura 48).

Figura 63 - Rede mais significativa do camundongo *Dmd^{mdx}/Large^{myd}-/-* com 21 dias. *Score*: 15; 4 genes selecionados. Categorias envolvidas: Sobrevivência e morte celular; Desenvolvimento celular; Morfologia de tumores

Já com a análise dos 72 genes específicos do duplo-mutante com três meses de idade, oito redes foram geradas e a mais significativa está ilustrada na Figura 64.

Figura 64 - Rede mais significativa do camundongo *Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}* com 3 meses. *Score*: 31; 72 genes seleccionados. Categorias envolvidas: Movimento celular; Desenvolvimento embrionário; Desenvolvimento e função do sistema nervoso

Por fim, a análise com os 44 genes do duplo-mutante com seis meses (diagrama A, Figura 50) gerou quatro redes; a mais significativa está na Figura 65.

Figura 65 - Rede mais significativa do camundongo *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* com 6 meses. *Score*: 32; 14 genes selecionados. Categorias envolvidas: Desenvolvimento embrionário; Desenvolvimento e função do sistema nervoso, Desenvolvimento do órgão

8. Caracterização da linhagem $Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}$ Comparação com suas linhagens parentais

Na tabela abaixo estão os totais de genes diferencialmente expressos no duplo-mutante antes da anotação:

Tabela 37 - Número de genes diferencialmente expressos nas comparações do duplo-mutante com as linhagens parentais

Comparações	21 dias	3 meses	6 meses
$Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-} \times Dmd^{mdx}$	185	58	44
$Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-} \times Large^{myd-/-}$	36	22	39

Nesta tabela estão os totais de genes após a anotação, indicando quantos genes estão super e subexpressos.

Tabela 38 - Comparações do duplo-mutante com as linhagens parentais. Totais de genes diferencialmente expressos após a anotação. Em vermelho, os genes superexpressos; em verde, os genes subexpressos

Comparações	21 dias			3 meses			6 meses		
$Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-} \times Dmd^{mdx}$	↑6	↓124	130	↑38	↓15	53	↑11	↓25	36
$Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-} \times Large^{myd-/-}$	↑8	↓8	16	↑9	↓3	12	↑32	↓1	33

No diagrama da figura 66, estão as listas de genes comuns de cada linhagem em todas as idades. Do total de 59 GDEs no duplo, 31 genes são os comuns a todas as linhagens (centro) descritos na tabela 24. Sete genes são compartilhados com a linhagem $Large^{myd-/-}$ (Tabela 39), e 20 genes com Dmd^{mdx} (Tabela X). Em destaque, está o único gene que tem expressão aumentada apenas na linhagem $Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}$ nas três idades. Esse gene é o *Lilrb3*.

Figura 66 - Diagrama de Venn reunindo todos os genes diferencialmente expressos nas três idades de cada linhagem. No centro estão os genes compartilhados por todas as linhagens e idades. Em destaque o único gene com expressão diferencial apenas na linhagem $Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}$.

Tabela 39 - Genes compartilhados com a linhagem *Large^{myd-/-}*

Símbolo	Entrez Gene Name
BAIAP2L1	BAI1-associated protein 2-like 1
HAL	histidine ammonia-lyase
LARGE	like-glycosyltransferase
MMP19	matrix metalloproteinase 19
MT1E	metallothionein 1E
PRUNE2	prune homolog 2 (Drosophila)
VSIG4	V-set and immunoglobulin domain containing 4

Tabela 40 - Genes compartilhados com a linhagem *Dmd^{mdx}*

Símbolo	Entrez Gene Name
ADAM8	ADAM metalloproteinase domain 8
ATP6V0D2	ATPase, H ⁺ transporting, lysosomal 38kDa, V0 subunit d2
C5AR1	complement component 5a receptor 1
Ccl2	chemokine (C-C motif) ligand 2
CCL3L1/CCL3L3	chemokine (C-C motif) ligand 3-like 1
CD84	CD84 molecule
CYBB	cytochrome b-245, beta polypeptide
EMB	embigin
FCER1G	Fc fragment of IgE, high affinity I, receptor for; gamma polypeptide
FCGR2B	Fc fragment of IgG, low affinity IIb, receptor (CD32)
FCGR3A	Fc fragment of IgG, low affinity IIIa, receptor (CD16a)
GAL	galanin/GMAP prepropeptide
Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204
Lyz1/Lyz2	lysozyme 2
Milr1	mast cell immunoglobulin like receptor 1
PRG4	proteoglycan 4
RUNX1	runt-related transcription factor 1
Tlr13	toll-like receptor 13
TREM2	triggering receptor expressed on myeloid cells 2
TYROBP	TYRO protein tyrosine kinase binding protein

8.1. IPA - Análise funcional do $Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}$

Para explorar mais os dados obtidos com os estudos do duplo-mutante, os genes diferencialmente expressos em cada idade do duplo-mutante (diagrama 56) foram avaliados no programa IPA, que além de gerar redes gênicas, também fornecer uma análise funcional, categorizando as principais funções encontradas dentre os genes fornecidos, servindo para corroborar os achados nas análises de enriquecimento apresentadas anteriormente. As tabelas 41, 42 e 43 mostram o que foi encontrado nas análises com os genes do duplo-mutante, nas três idades.

Tabela 41 - Categorias biológicas enriquecidas na linhagem $Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}$ com 21 dias de idade. 97 genes diferencialmente expressos foram utilizados nessa análise

Categorias	p-value	# Moléculas
Diseases and disorders		
Endocrine System Disorders	1,05E-21 – 1,13E-03	38
Gastrointestinal Disease	1,05E-21 – 1,05E-03	43
Metabolic Disease	1,05E-21 – 2,23E-05	40
Immunological Disease	1,79E-21 – 6,60E-04	52
Inflammatory Response	2,47E-19 – 1,09E-03	51
Molecular and Cellular Functions		
Cellular Movement	1,36E-21 – 1,08E-03	42
Cell-to-Cell Signaling and Interaction	3,11E-15 – 1,14E-03	44
Cellular Function and Maintenance	4,11E-15 – 1,11E-03	38
Cell Death and Survival	3,31E-12 – 1,08E-03	41
Molecular Transport	4,53E-10 – 1,14E-03	35
Physiological System Development and Function		
Immune Cell Trafficking	1,36E-21 – 9,79E-04	40
Hematological System Development and Function	1,67E-21 – 8,91E-04	51
Tissue Morphology	2,47E-19 – 1,11E-03	42
Humoral Immune Response	7,32E-10 – 6,07E-04	19
Connective Tissue Development and Function	2,67E-09 – 5,45E-04	25

Tabela 42 - Categorias biológicas enriquecidas na linhagem *Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}* com 3 meses de idade. 280 genes diferencialmente expressos foram utilizados nessa análise

Categorias	p-value	# Moléculas
Diseases and disorders		
Inflammatory Response	4,35E-35 – 2,25E-05	135
Immunological Disease	3,72E-34 – 8,12E-06	111
Endocrine System Disorders	6,29E-34 – 1,39E-05	84
Gastrointestinal Disease	6,29E-34 – 2,25E-05	92
Metabolic Disease	6,29E-34 – 1,09E-05	82
Molecular and Cellular Functions		
Cellular Movement	6,33E-35 – 2,06E-05	109
Cell-to-Cell Signaling and Interaction	1,53E-31 – 2,03E-05	117
Cellular Function and Maintenance	4,27E-27 – 1,35E-05	112
Cellular Development	1,17E-21 – 1,12E-05	124
Cellular Growth and Proliferation	1,17E-21 – 1,89E-05	141
Physiological System Development and Function		
Immune Cell Trafficking	6,33E-35 – 1,94E-05	103
Hematological System Development and Function	5,65E-33 – 2,11E-05	136
Tissue Morphology	2,44E-31 – 2,11E-05	119
Tissue Development	3,42E-25 – 2,06E-05	116
Humoral Immune Response	9,90E-21 – 4,79E-06	51

Tabela 43 - Categorias biológicas enriquecidas na linhagem *Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}* com 6 meses de idade. 283 genes diferencialmente expressos foram utilizados nessa análise

Categorias	p-value	# Moléculas
Diseases and disorders		
Immunological Disease	1,98E-42 – 1,91E-06	122
Endocrine System Disorders	4,10E-41 – 1,35E-09	106
Gastrointestinal Disease	4,10E-41 – 1,38E-06	112
Metabolic Disease	4,10E-41 – 6,78E-07	104
Inflammatory Response	1,55E-39 – 1,86E-06	139
Molecular and Cellular Functions		
Cellular Movement	3,36E-38 – 1,86E-06	114
Cell-to-Cell Signaling and Interaction	2,66E-36 – 1,38E-06	121
Cellular Function and Maintenance	1,68E-31 – 8,97E-07	116
Cellular Development	1,34E-27 – 1,82E-06	124
Cellular Growth and Proliferation	1,34E-27 – 1,82E-06	139
Physiological System Development and Function		
Immune Cell Trafficking	3,36E-38 – 1,86E-06	108
Hematological System Development and Function	2,04E-35 – 1,86E-06	142
Tissue Morphology	1,18E-32 – 5,51E-07	113
Tissue Development	4,33E-24 – 1,18E-06	123
Humoral Immune Response	1,45E-22 – 5,51E-07	54

8.2. Redes funcionais com todos os genes

Além das redes apresentadas anteriormente, também foram feitas análises no programa IPA com o total de genes diferencialmente expressos nos animais duplo-mutantes, mostrando as interações entre eles.

Estão apresentadas as cinco redes com maior significância e número de moléculas envolvidas, e ilustradas apenas as duas principais.

Tabela 44 - Principais redes gênicas formadas com os genes diferencialmente expressos no *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* com 21 dias

	<i>Top Networks</i>	<i>Score</i>	<i># moléculas</i>
1	Cellular Movement, Hematological System Development and Function, Immune Cell Trafficking	45	21
2	Developmental Disorder, Hereditary Disorder, Skeletal and Muscular Disorders	33	17
3	Cell-To-Cell Signaling and Interaction, Inflammatory Response, Antimicrobial Response	27	14
4	Cellular Movement, Hematological System Development and Function, Immune Cell Trafficking	24	13
5	Cell-To-Cell Signaling and Interaction, Nervous System Development and Function, Behavior	21	12

Figura 67 - Rede mais significativa do camundongo *Dmd^{mdx}/Large^{myd}* com 21 dias. *Score*: 45; 21 genes selecionados. Categorias envolvidas: Movimento celular; Desenvolvimento e função do sistema hematológico; Tráfego de células imunes

Figura 68 - Segunda rede mais significativa do camundongo *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* com 21 dias. *Score*: 33; 17 genes selecionados. Categorias envolvidas: Doença do desenvolvimento; Doença hereditária; Doenças esqueléticas e musculares

Tabela 45 - Principais redes gênicas formadas com os genes diferencialmente expressos no *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* com 3 meses

	<i>Top Networks</i>	<i>Score</i>	<i># moléculas</i>
1	Cardiovascular Disease, Neurological Disease, Hereditary Disorder	47	27
2	Hematological System Development And Function, Inflammatory Response, Tissue Morphology	40	24
3	Endocrine System Disorders, Gastrointestinal Disease, Immunological Disease	39	23
4	Humoral Immune Response, Protein Synthesis, Developmental Disorder	39	23
5	Connective Tissue Disorders, Organismal Injury and Abnormalities, Immunological Disease	30	20

© 2000-2014 Ingenuity Systems, Inc. All rights reserved.

Figura 69 - Rede mais significativa do camundongo *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* com 3 meses. *Score*: 47; 27 genes selecionados. Categorias envolvidas: Doença cardiovascular; Doença neurológica; Doença hereditária

Figura 70 - Segunda rede mais significativa do camundongo *Dmd^{mdx}/Large^{myd/-/-}* com 3 meses. *Score*: 40; 24 genes selecionados. Categorias envolvidas: Desenvolvimento e função do sistema hematológico; Resposta inflamatória; Morfologia tecidual

Tabela 46 - Principais redes gênicas formadas com os genes diferencialmente expressos no *Dmd^{mdx}/Large^{myd/-/-}* com 6 meses

	<i>Top Networks</i>	<i>Score</i>	<i># moléculas</i>
1	Inflammatory Response, Cellular Movement, Immune Cell Trafficking	50	29
2	Hematological System Development And Function, Tissue Morphology, Cellular Development	41	24
3	Cell Death And Survival, Cellular Assembly and Organization, Cellular Compromise	36	22
4	Developmental Disorder, Hereditary Disorder, Immunological Disease	31	20
5	Cellular Function and Maintenance, Hematological System Development And Function, Infectious Disease	30	19

Figura 71 - Rede mais significativa do camundongo *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* com 6 meses. *Score*: 50; 29 genes selecionados. Categorias envolvidas: Resposta inflamatória; Movimento celular; Tráfego de células imunes

Figura 72 - Segunda rede mais significativa do camundongo *Dmd^{mdx}/Large^{myd}* com 6 meses. *Score*: 41; 24 genes selecionados. Categorias envolvidas: Desenvolvimento e função do sistema hematológico; Morfologia tecidual; Desenvolvimento celular

9. Validação do perfil de expressão por PCR em tempo real quantitativo

Doze genes que apresentaram expressão alterada nos microarranjos foram avaliados por PCR em tempo real quantitativo para a confirmação do perfil de expressão. São eles: *Ankrd1*, *Gpnmb*, *Large*, *Mmp14*, *Mstn*, *Mup1*, *Myog*, *Nos1*, *Ostn*, *Pttg1*, *Tnnt2*. A análise foi feita em três animais de cada linhagem de cada idade.

As quantificações relativas da expressão dos genes estão apresentadas nos gráficos seguintes.

Figura 73 - Quantificações relativas dos genes estudados nas amostras de 21 dias

Figura 74 - Quantificações relativas dos genes estudados nas amostras de 3 meses

Figura 75 - Quantificações relativas dos genes estudados nas amostras de 6 meses

Discussão

O estudo do perfil de expressão do tecido muscular dos camundongos modelo de distrofias musculares forneceu uma grande quantidade de dados valiosos para a compreensão dos mecanismos que são ativados nessas doenças. Com esses dados pudemos responder a algumas questões e especular a respeito das implicações que as alterações nos valores de expressão de alguns genes, mas mais importante que isso, abrimos novos e interessantes caminhos para serem investigados futuramente.

1. Metodologia

1.1. Coleta da amostra; extração e controle de qualidade de RNA

As colônias dos animais *C57BL*, *Dmd^{mdx}* e *Large^{myd/-}* são mantidas no biotério do Centro de Pesquisas do Genoma Humano e Células-tronco há muitos anos e os camundongos necessários para os experimentos desse trabalho foram obtidos através de cruzamentos programados.

A colônia da linhagem *Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}* é mantida em heterozigose, a dupla mutação não causa perda pré-natal, e assim os animais homozigotos para a mutação no gene *Large* nascem na proporção de 25% (Martins *et al.*, 2013). O ponto crítico desses animais é a sobrevivência, visto que alguns morrem logo nas primeiras 24 horas de vida e outros antes ou no período próximo à idade do desmame, realizado por volta de 21 dias após o nascimento. Assim, para a obtenção de um conjunto mínimo de animais é necessário o emprego de esforços maiores na manutenção da colônia, incluindo um número elevado de casais em reprodução e maior atenção ao nascimento das ninhadas e manejo dos animais duplo-mutantes, que são mais delicados em relação a outros camundongos distróficos.

Em geral, a coleta de material para extração de DNA para a genotipagem de camundongos é feita no desmame, mas como esses animais tem a sobrevivência reduzida, a genotipagem foi feita quando os filhotes completavam 15 dias. Mesmo assim, nem todos os animais duplo-afetados chegam a ser genotipados, o que explica os 9,5% de animais identificados (46 dentre os 485 filhotes genotipados). E mesmo após a fase do desmame, são poucos os animais que atingem a vida adulta: dos 35 machos obtidos, 18 (51%) atingiram a idade adulta.

Estudos de transcriptoma requerem dados de qualidade e confiáveis, além de serem ensaios de alto custo financeiro. Por essas razões, a qualidade do RNA a ser utilizado é muito importante para a produção de dados confiáveis.

A extração de RNA dos músculos foi satisfatória, oferecendo produtos dentro da concentração e qualidade necessárias, de acordo com os parâmetros utilizados. Mesmo as amostras em que foi necessário o tratamento com DNase e posterior purificação, mantiveram a qualidade requerida.

1.2. Controle de qualidade dos microarranjos e pré-análise

Ao longo das diversas etapas de preparação das amostras para a hibridização nas lâminas de microarranjos há alguns pontos de controle de qualidade das reações, que são determinantes para o prosseguimento do protocolo. O primeiro ponto é o rendimento de cRNA, que deve ser acima de 455 ng/μl; o segundo é o rendimento do cDNA, com rendimento mínimo de 220 ng/μl e o último é o controle em gel de agarose para verificação da reação de fragmentação. Todos esses critérios foram atendidos satisfatoriamente. A hibridização também ocorreu de modo adequado e não foi necessário excluir nenhuma lâmina da análise pela presença de artefatos.

O pré-processamento feito com o algoritmo RMA fornece parâmetros para a avaliação da qualidade dos dados gerados. Todos os parâmetros analisados estão dentro dos valores estabelecidos, refletindo a boa qualidade dos RNAs usados, oferecendo segurança para o prosseguimento das análises.

2. Triagem dos genes diferencialmente expressos

2.1. Número total de genes diferencialmente expressos

A análise do perfil de expressão gênica global dos músculos posteriores da pata dos camundongos estudados foi capaz de revelar um grande número de genes que se comportam de maneira distinta na presença de um defeito genético, confirmando que, apesar de serem doenças monogênicas, os efeitos das mutações são muito mais amplos e complexos.

As comparações entre os controles normais e os animais distróficos apresentam o maior número de genes com expressão diferencial do que as feitas entre o duplo-mutante e as linhagens parentais.

É notável também que o processo de distrófico envolve em sua maioria um aumento da expressão de muitos genes; apenas poucos genes tiveram valores reduzidos de expressão. Mais genes super do que hipoexpressos pode ser um reflexo da alta produção de proteínas, por conta da regeneração, e também da forte ativação do sistema imunológico.

Dos modelos estudados neste trabalho, na literatura há apenas trabalhos sobre a expressão global no camundongo *Dmd^{mdx}*; o estudo da expressão gênica do músculo do

Large^{myd^{-/-}} é inédito, bem como do duplo-mutante *Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}*, que foi desenvolvido e descrito recentemente em nosso laboratório.

A quantidade de genes diferencialmente expressos no camundongo *Dmd^{mdx}* descrita nos trabalhos publicados até o presente varia bastante (Tabela 47). Isso se deve às diferenças nos desenhos experimentais: as idades, os músculos, os microarranjos e os testes estatísticos.

Tabela 47 - Resumo dos trabalhos publicados sobre a expressão gênica global do *Dmd^{mdx}*

Artigo	Microarranjo	Músculo	Idade	# genes
Marotta et al, 2009	MOE 430 2.0 Affymetrix	Gastrocnêmio medial	3 semanas; 1,5 mês; 3 meses	206 (total) 117 (3 meses)
Haslett et al, 2005	MG-U74Av2 Affymetrix	Diafragma, EDL, gastrocnêmio, quadríceps, soleus e TA	8 semanas	373 (músculos das patas)
Turk et al, 2005b	Sigma-Genosys mouse 7.5k	Quadríceps	8 semanas (incluía outras linhagens)	2171 genes (todas as linhagens)
Turk et al, 2005	Sigma-Genosys mouse 7.5k	Posteriores das patas	1, 2.5, 4, 6, 8, 10, 12, 14 e 20 semanas	1735 (todas as idades) 2.5 semanas: 400 4 semanas: ~250 12 semanas: >800 20 semanas: 600
Porter et al, 2003	MG-U74Av2 Affymetrix	Gastrocnêmio e soleus	7, 14, 23, 28, 56 e 112 dias	719 (todas as idades)
Porter et al, 2002	MG-U74Av Affymetrix	Gastrocnêmio e soleus	8 semanas	242
Rouger et al, 2002	Customizado	Posteriores das patas	1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 12, 16, 24, 36 e 52 semanas	67
Boer et al, 2002	MG-U74Av2 Affymetrix	Gastrocnêmio	13 e 15 semanas	58
Tseng et al, 2002	MG-U74Av2 Affymetrix	Gastrocnêmio	16 semanas	137
Tkatchenko et al, 2000	Customizado	Posteriores das patas	3 meses	51

Por essas razões, é difícil encontrar uma correspondência exata entre o número de GDEs aqui encontrados e os reportados na literatura.

A primeira análise comparativa dos genes diferencialmente expressos revelou um grande número de genes no modelo *Dmd^{mdx}*, bem maior que o visto nas outras duas linhagens na mesma idade de 21 dias. A doença no *Dmd^{mdx}* começa a se manifestar aos 21 dias de idade, o que pode explicar a grande quantidade de genes desregulados, diferentemente dos outros dois camundongos, que já manifestam a doença desde o nascimento. Já na idade adulta, o número de genes com expressão diferencial no *Dmd^{mdx}* é

mais próxima à observada nos dois outros modelos, o que pode ser um reflexo da estabilização da doença.

O aumento na quantidade de genes conforme o envelhecimento dos modelos *Large^{myd-/-}* e *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* sugere que nos processos distróficos mais graves, como os observados nestes modelos, a intensa transformação do músculo com a progressão, envolve um aumento de expressão de muitos outros genes.

Os músculos dos camundongos *Dmd^{mdx}* e *Large^{myd-/-}* apresentam diferenças marcantes quanto ao grau de degeneração e capacidade de regeneração. Na Figura 76, temos a histologia do músculo gastrocnêmio dos animais *Dmd^{mdx}* (A) e *Large^{myd-/-}* (B) com três meses de idade. Podemos observar o maior comprometimento do músculo do *Large^{myd-/-}*, com degeneração, fibras imaturas e fibras centronucleadas (Holzfeind *et al.*, 2002); já no *Dmd^{mdx}* o comprometimento é menor, o músculo está mais preservado e regenerado, com fibras centronucleadas (Briguet *et al.*, 2004).

Figura 76 - Histologia do músculo gastrocnêmio dos animais *Dmd^{mdx}* e *Large^{myd-/-}*. Coloração de hematoxilina-eosina; aumento 10X

2.2. Genes diferencialmente expressos – Tecido muscular

O filtro para os genes com atividade descrita no músculo esquelético mostrou que por volta de 40% (nas comparações com o animal controle) dos genes se encaixam nesse critério. Isso é uma indicação da heterogeneidade do órgão, que evidentemente além das células musculares, possui diversos tipos celulares associados. Assim sendo, as mudanças na expressão de grande parte dos genes estão ocorrendo em outros componentes do músculo, mostrando que o defeito genético, que primariamente afeta as células musculares, é capaz de perturbar e influenciar os demais tipos celulares.

Interessantemente, no *Dmd^{mdx}* a proporção de genes musculares, ao redor de 30%, se manteve constante em todas as idades. Por outro lado, no modelo *Large^{myd-/-}* e *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* o valor inicial de 30% de genes musculares aumentou com a idade, sugerindo que nos estágios mais adiantados da doença, mais componentes musculares

estão envolvidos. Isso é um fato curioso, pois com o avanço da idade a proporção do tecido muscular é menor, devido à substituição por tecido conjuntivo; assim, esperaríamos que mais genes desse tecido estivessem desregulados.

Neste grupo de GDE, também se observou mais genes superexpressos, do que subexpressos, sendo estes últimos mais elevados nos animais mais velhos.

3. Caracterização do Processo Ditrófico

3.1. GDEs comuns em todas as linhagens distróficas

Os genes que são comuns a todas as linhagens e idades podem ser considerados genes marcadores de distrofia muscular, isto é, são genes que vão apresentar expressão diferencial independentemente do defeito genético primário causador da forma de distrofia e do grau de evolução da doença.

Dentre os 31 genes diferentemente expressos em todas as linhagens e todas as idades serão discutidos aqueles com alguma relação com o funcionamento muscular já descrita na literatura.

Ankrd1

O gene *Ankrd1* codifica a proteína CARP, que se associa às proteínas titina e calpaína 3, dentre outras, provendo estabilidade ao sarcômero (Laure *et al.*, 2010), e está envolvida em uma via mecanosinalizadora que conecta a resposta ao estresse miofibrilar à expressão gênica do músculo. Além disso, ela exerce um papel importante na regulação da transcrição de genes como *Ttn* (titina) e *MyoD*, na formação da miofibrila, na cardiogênese e na miogênese (Kojic, Radojkovic e Faulkner, 2011). A expressão de *Ankrd1* é predominantemente cardíaca (Baumeister, Arber e Caroni, 1997), mas também está fortemente induzida no músculo esquelético humano fetal, o que indica que CARP tem um papel importante no músculo esquelético também.

De fato, na biópsia muscular de indivíduos com DMD foi detectada alta expressão de CARP, confinada a pequenas miofibras em regeneração, que expressam miosina de cadeia pesada (MHC) embrionária, sugerindo que CARP possa ser usada como um marcador de regeneração nessa doença. Em pacientes com CMD foram encontradas mais miofibras positivas para CARP do que em DMD, porém, a expressão não está limitada a fibras em regeneração, sendo detectada em miofibras expressando MHC embrionária e naquelas expressando MHC adulta. Isso sugere que o estágio de diferenciação das miofibras CARP-positivas em DMD e CMD podem ser diferentes (Nakada *et al.*, 2003).

Modelos temporários ou definitivos de atrofia muscular e camundongos modelo de distrofias musculares apresentam expressão persistente de CARP, servindo então como um

marcador de lesão muscular. A expressão de *Ankrd1* aumenta também a expressão de *Cdkn1a* (inibidor da proliferação celular) em mioblastos em proliferação e em miotubos diferenciados, o que pode implicar na redução da proliferação celular e/ou inibição da apoptose, impedindo o remodelamento tecidual. Entretanto, ainda é duvidoso se a maior expressão CARP significa que ela participa da degeneração ou se é uma tentativa de resistência. O fato de estar superexpressa em todos os modelos e em todas as idades, incluindo os animais gravemente afetados com três meses sugere um envolvimento significativo no processo de degeneração. Portanto, se a superexpressão de CARP for realmente prejudicial ao músculo esquelético, a sua inibição poderia ser um importante ponto de intervenção terapêutica (Laure *et al.*, 2009).

A partir disso concluímos que a indução da expressão de *Ankrd1* em todas as linhagens estudadas pode ser um indicador da degeneração muscular, e ao mesmo tempo um reflexo da regeneração nesses músculos. Assim, mais estudos são necessários para um melhor entendimento do papel dessa proteína na distrofia muscular.

Mmp12

A fibrose é uma importante característica das distrofias musculares, sendo possível até traçar uma correlação entre a extensão da fibrose e progressão do quadro clínico.

As metaloproteinases de matriz são importantes reguladores da matriz extracelular, coordenando a inflamação, a deposição de matriz e a reorganização do tecido (Tallant, Marrero e Gomis-Rüth, 2010). Na literatura não foram encontrados trabalhos que relacionem a proteína MMP12 (*macrophage elastase*) com distrofias musculares ou o músculo esquelético, mas já foi vista a expressão diferencial em camundongos *Dmd^{mdx}* (Boer *et al.*, 2002).

O gene *Mmp12* é principalmente expresso por macrófagos que secretam uma variedade de metaloproteinases que atuam no remodelamento da matriz extracelular associado a processos inflamatórios, facilitando a migração dos próprios macrófagos. Macrófagos que não expressam *Mmp12* são incapazes de realizar a proteólise da matriz extracelular e invadir tecidos (Shipley *et al.*, 1996).

Na infecção por parasitas, há indução da expressão de *Mmp12* no fígado e no pulmão, agindo como um potente promotor da inflamação e fibrose. Em camundongos deficientes em *Mmp12* e infectados com parasitas foram observados aumentos na expressão de *Mmp2* e *Mmp13*, sugerindo que *Mmp12* promoveria a fibrose limitando a expressão de Mmps específicas da degradação da ECM; também observada redução da fibrose induzida por IL-13 (Madala *et al.*, 2010).

Em camundongos modelo de inflamação foi demonstrado que MMP12 faz também a proteólise de quimiocinas, além da atividade de degradação de matriz já bem

caracterizada. Inicialmente, MMP12 tem um papel pró-inflamatório no recrutamento de células polimorfonucleadas (PMN); mais tardiamente, MMP12 exerce um papel anti-inflamatório que anula o influxo de PMNs e macrófagos. Assim, MMP12 está envolvida na regulação da atividade celular inflamatória independentemente de qualquer atividade degradativa (Dean *et al.*, 2008).

Extrapolando as informações obtidas nesses trabalhos, podemos propor dois cenários para a indução da expressão de *Mmp12* nos camundongos distróficos. O primeiro seria a atividade constante de macrófagos no músculo desses animais, promovendo a inflamação e a fibrose; o segundo seria uma tentativa de redução da inflamação, pela degradação de quimiocinas e redução da atração de mais células inflamatórias. De toda forma, ambos os processos estariam presentes desde os estágios iniciais, até os mais adiantados e em todas as formas de distrofias.

Timp1

Todas as linhagens estudadas também apresentaram expressão aumentada de *Timp1*, que codifica para a enzima inibidora de metaloproteinase-1. TIMP1 inibe MMP14, MMP9, MMP2, MMP1, MMP16, MMP19, MMP24, MMP3 e MMP8, e peptidases da família Adam.

A indução do mRNA de *Timp1* já foi reportada nos músculos de pacientes com DMD. O aumento na atividade de *Timp1* sugere a redução da atividade de *Mmp1* e consequente diminuição da remoção de ECM, aumentando a fibrose (Von Moers *et al.*, 2005).

A análise da expressão e localização de TIMP1 foi feita em biópsias de pacientes com DMD, BMD e CMD, e nos camundongos *Dmd^{mdx}* e *dy/dy* (modelo com deficiência de laminina). *Timp1* está distribuída no citoplasma, sarcolema e núcleo de fibras em regeneração, e algumas vezes também está fortemente expressas em fibras não regenerativas. Foi vista uma localização muito próxima com Tgf- β no citoplasma e núcleo de fibras regenerativas, sugerindo uma relação entre essas duas proteínas. TIMP1 também foi localizada em fibroblastos ativos e em macrófagos (Sun *et al.*, 2010).

As consequências da expressão aumentada de *Timp1* podem incluir a inibição de *Mmps*, resultando no acúmulo de ECM e na inibição da angiogênese de células endoteliais intramusculares, resultando na redução da irrigação sanguínea para fibras em regeneração. Mas também pode haver um efeito autócrino nas fibras em regeneração para produzir miofibras fundidas, uma vez que TIMP1 já foi relacionada com a diferenciação miogênica (Sun *et al.*, 2010).

A superexpressão de *Mmp9*, cujo inibidor é TIMP1, melhora a migração de células miogênicas e a sua inibição reduz a capacidade migratória (Morgan *et al.*, 2010). Assim, o

aumento da expressão de *Timp1* nos camundongos estudados pode ter duas consequências principais, diretamente relacionadas com o processo distrófico: aumentar a fibrose e atrapalhar a regeneração, dificultando a migração de células pela inibição de *Mmp9*.

Myh3

Myh3 tem a função de converter a energia química do ATP em energia mecânica. É um gene expresso predominantemente no músculo esquelético e é indispensável no desenvolvimento e na regeneração muscular (Feghali e Leinwand, 1989; Karsch-Mizrachi *et al.*, 1989). A expressão de *Myh3* foi vista em mioblastos mononucleados em proliferação e também em miotubos multinucleados e maduros, em cultura de células humanas (Abdul-Hussein, Van Der Ven e Tajsharghi, 2012). Logo, a superexpressão de *Myh3* nos animais distróficos pode ser tanto um marcador de células em regeneração, como de células imaturas resultantes da própria regeneração.

Myl4

Myl4 também é relacionado ao processo de formação de miotubos, sendo transcrito no músculo esquelético no início da diferenciação muscular (Catala *et al.*, 1995), portanto é um marcador de regeneração.

Nos animais estudados, o gene *Myl4* apresenta expressão aumentada com valores entre 2,1 e 2,5 nas idades de 21 dias e três meses, mas valores entre 1,2 e 1,9 nos camundongos com seis meses, sugerindo que na idade mais avançada ainda há regeneração muscular, porém um pouco menos ativa que nos animais mais jovens.

Tnnt2

Outro gene expresso no início da regeneração é *Tnnt2* e que também já foi encontrado com expressão aumentada em pacientes com DMD, sendo associado à regeneração ativa no músculo distrófico (Noguchi *et al.*, 2003).

Tubb6

Tubb6 é o gene de umas das beta-tubulinas que formam os microtúbulos, estruturas importantes em processos como mitose e transporte intracelular.

Catepsina S

Catepsina S é uma protease localizada no lisossomo, que cliva proteínas antigênicas para a apresentação por moléculas MHC-II. Ela também pode atuar como uma elastase em macrófagos.

A expressão alterada de *Ctss* já foi vista em análises do transcriptoma do *Dmd^{mdx}* e foi proposto que, junto com a superexpressão de componentes do sistema elástico elastina, *Lox* e *Mfap2*, a catepsina pode modular a produção de elastinas e a sua deposição no músculo desse animal. Isso indicaria um provável mecanismo de resposta, que reforçaria a ligação entre a matriz extracelular e o citoesqueleto, protegendo as fibras musculares contra danos da contração muscular (Marotta *et al.*, 2009).

Assim, a expressão aumentada de *Ctss* nos animais distróficos pode resultar no maior processamento de antígenos para apresentação dos mesmos para linfócitos T, e também na degradação de matriz extracelular.

Lgmn

Lgmn codifica também uma protease lisossômica com papel no processamento de antígenos para apresentação por moléculas MHC-II e no metabolismo de vitamina D. Tumores que superexpressam *Lgmn* têm maior capacidade migratória e de invasão, sendo um ativador de MMP2 (Liu *et al.*, 2003).

Dpep2

DPEP2 é uma protease envolvida no metabolismo do ácido araquidônico; há poucas informações na literatura.

S100a4

Proteínas da família S100 regulam diversos processos como a progressão no ciclo celular e a diferenciação. Em tumores, a superexpressão de *S100A4* eleva a expressão de *MMP13*, favorecendo a migração celular e a angiogênese (Wang *et al.*, 2012), bem como a expressão e a atividade proteolítica de MMP9 (Zhang *et al.*, 2011).

Gpnmb

A expressão elevada de *Gpnmb* (osteoactivina) em camundongos distróficos (Turk *et al.*, 2006) e pacientes com DMD (An *et al.*, 2013) já foi descrita em trabalhos anteriores. Osteoactivina tem sido implicada na diferenciação e funcionamento de vários tipos celulares (Singh *et al.*, 2010). Estudos em músculo esquelético atrofiado por denervação mostraram que a denervação induz a expressão de osteoactivina no sarcolema, levando à

expressão de MMP3 e MMP9 por fibroblastos infiltrados no tecido, sugerindo um papel importante na regulação da degeneração/regeneração da matriz extracelular (Ogawa *et al.*, 2005).

MMP3 regula o crescimento e desenvolvimento de tecidos pela degradação seletiva de complexos ligantes de proteína IGF1/IGF1 (Fowlkes *et al.*, 2004). MMP9 está envolvida na migração e formação de miotubos (Lewis *et al.*, 2000).

A denervação do músculo por um longo prazo causa uma degeneração severa e fibrose, mas a superexpressão de *Gpnm1* protege o músculo contra esses efeitos, havendo a expressão de genes associados à degeneração/regeneração e redução da expressão de genes antifibrose (Furochi *et al.*, 2007).

Ms4a7, Ms4a4a, Ms4a6a, Ms4a6c

Os genes *Ms4a7*, *Ms4a4a*, *Ms4a6a*, *Ms4a6c* são expressos por linfócitos, mas ainda não têm função estabelecida. Na literatura há poucas informações sobre o gene *Wfdc17* que também parece estar envolvido na resposta imunológica.

Portanto, parte dos genes aqui discutidos tem envolvimento com regeneração e remodelamento da matriz extracelular, em todos os processos distróficos e em todas as idades. Dos restantes, alguns ainda não têm sua função identificada, e os que participam das vias de sistema imune serão discutidos adiante.

3.2. Genes diferencialmente expressos em cada idade - Efeito da idade

Quando analisamos quais são os genes compartilhados por todas as linhagens especificamente em cada idade (seção 6.2), podemos avaliar a extensão da alteração na expressão gênica e quais são os genes que poderiam caracterizar as mudanças que ocorrem com o avanço da idade na presença do processo distrófico.

De modo geral, o total de GDEs compartilhados pelas três linhagens aumenta progressivamente com a idade: 63 genes em 21 dias, 88 genes aos três meses e 127 genes aos seis meses (diagrama B das Figuras 48, 49 e 50). Muitos genes são diferencialmente expressos em mais de uma idade. Para verificar o efeito da idade no processo distrófico, avaliamos os GDEs comuns especificamente expressos em cada idade.

Na tabela 25 temos os 17 genes que são expressos nas três linhagens distróficas na idade de 21 dias. Destes genes destacamos alguns.

Ccna2, *Ccnb1/Gm5593* e *Cdkn1A* são genes envolvidos em funções do ciclo celular, sugerindo um aumento da divisão celular. *Myh8* codifica a miosina de cadeia pesada

perinatal, o que mostra a imaturidade do músculo desses animais, ou a presença de fibras novas em regeneração.

O genótipo do gene *SPP1* em pacientes com DMD é utilizado como marcador de prognóstico da doença (Pegoraro *et al.*, 2011). A proteína codificada por este gene, osteopontina ou fosfoproteína secretada 1, é secretada por mioblastos e estimula a proliferação dos mesmos (Uaesoontrachoon *et al.*, 2008) e já foi descrita como um dos componentes da inflamação no músculo distrófico (Haslett *et al.*, 2002; Porter *et al.*, 2002). Recentemente, foi demonstrado que o aumento da expressão de osteopontina é induzido após uma lesão, indicando que ela promove a inflamação muscular, a necrose e a regeneração, tornando-a um fator importante da remodelação muscular (Uaesoontrachoon *et al.*, 2013). Assim, o aumento da expressão de *Spp1* nos camundongos aqui estudados tem relação direta com a intensa degeneração e subsequente regeneração que os músculos deles sofrem nessa idade. Vale lembrar que *Spp1* também está superexpresso no *Dmd^{mdx}* com três meses de idade.

A tabela 26 lista os 11 genes característicos dos três meses de idade, dos quais o gene *Capn6* chama mais a atenção. *CAPN6* é expresso predominantemente nos músculos embrionários e na placenta, estando envolvido na regulação da dinâmica dos microtúbulos e na reorganização da actina de células em cultura. Em um trabalho recente, foi gerado um camundongo com deficiência de *Capn6* no músculo esquelético. A análise do desenvolvimento desse animal mostrou que a deficiência de *Capn6* promoveu o desenvolvimento do músculo esquelético embrionário. Os mioblastos deficientes em *Capn6* também apresentaram melhor diferenciação muscular em relação às células controle. Além disso, foi visto que *CAPN6* é expressa no músculo em regeneração de camundongos lesionados, mas a expressão de marcadores de regeneração foi maior nos camundongos com deficiência de *Capn6*, que exibiram uma regeneração mais avançada que os animais controle. Todos esses dados apontam que a perda da expressão da proteína calpaína 6 promove a diferenciação muscular tanto no desenvolvimento quanto na regeneração, logo, *CAPN6* age como um supressor da diferenciação e crescimento do músculo esquelético, modulando funções basais como a divisão celular (Tonami *et al.*, 2013).

Nos animais com três meses de idade, a expressão de *Capn6* está aumentada, o que pode ter implicações na modulação da regeneração muscular nessa fase da doença.

A tabela 27 mostra os 55 genes com expressão alterada especificamente aos seis meses de idade nas três idades. Destacamos os genes de colágeno *Col3a1*, *Col6a3* e *Col8a1*, com expressão aumentada, refletindo a formação de fibrose.

O gene *Mstn*, da proteína miostatina que é um supressor do crescimento muscular (Lee, 2004), está subexpresso em todas as linhagens com seis meses de idade. Os animais *Large^{myd/-}* e *Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}* com três meses também apresentaram redução na

expressão de *Mstn*. Assim, a redução da expressão de miostatina pode ser uma tentativa de facilitar a regeneração nos animais adultos.

3.3. Classificação funcional dos genes diferencialmente expressos

Com o intuito de entender o significado biológico das mudanças observadas no padrão de expressão dos genes, analisamos os genes diferencialmente expressos nos camundongos modelo estudados usando ferramentas de bioinformática que fornecem informações sobre as vias biológicas (*Kegg Pathways*) e a classificação ontológica (*Gene Ontology*), identificando os termos significativamente enriquecidos. Esse modo de análise agrupa os genes, dando uma visão mais panorâmica e generalista do estado em que se encontram os processos biológicos da condição estudada.

Os termos enriquecidos foram encontrados apenas com os genes superexpressos, os genes subexpressos não tiveram resultados significantes; assim, as vias e funções apresentadas estão ativadas no músculo dos camundongos estudados.

3.3.1. Enriquecimento de vias biológicas - KEGG Pathways

As vias biológicas que estão enriquecidas são majoritariamente vias do sistema imunológico, principalmente as vias de sinalização de quimiocinas e de interação de citocinas com seus receptores, que aparecem ativadas em todas as linhagens, em todas as idades.

É interessante também o enriquecimento da via "Lisossomo" no camundongo *Dmd^{mdx}* 21 dias, e nas três linhagens com três e seis meses de idade. A maior atividade dessa via pode ser devido ao processo de degeneração, que aumenta as taxas de digestão celular.

As vias "Ciclo celular", "Sinalização do p53" e "Replicação de DNA" também aparecem apenas no *Dmd^{mdx}* com 21 dias de idade, indicando que nessa fase, o músculo desses animais está passando por uma fase mais intensa de proliferação celular, o que está diretamente relacionado com a regeneração muscular.

De forma geral, as vias biológicas que estão alteradas nos animais distróficos são as mesmas, independentemente do estágio de progressão da doença ou da mutação primária.

3.3.2. Enriquecimento de funções biológicas

Os termos GO (Anexo B) encontrados na análise bioinformática foram agrupados manualmente em categorias mais generalistas, pois muitos termos são redundantes e correlacionados entre si. E como a representação da categoria "Sistema imune e

inflamação” foi sempre superior a 50% do total, optamos por ver a distribuição das demais separadamente, para melhor visualização das categorias que se destacam mais em cada linhagem além da resposta imunológica.

O papel do sistema imune nas distrofias musculares será discutido mais adiante.

Na linhagem *Dmd^{mdx}* com 21 dias de idade é notável a grande proporção de funções relacionadas com o ciclo celular (27% na análise com todas as categorias e 60% na análise eliminando a categoria sistema imune e inflamação). Essa categoria aparece muito pouco nas outras linhagens e idades. Assim, aprofundamento da sua avaliação é interessante, uma vez que essas funções podem ajudar a explicar o fenótipo desse animal, que apesar de ter ausência total de distrofina não manifesta a doença na mesma proporção que os humanos afetados. Além disso, os genes envolvidos nessas funções poderiam ser os genes protetores desse camundongo e, conseqüentemente, genes possivelmente terapêuticos.

Nessa idade, é sabido que o músculo desse camundongo começa a apresentar os primeiros sinais da doença caracterizada por intensa degeneração muscular (Pastoret e Sebillé, 1995; Reed e Bloch, 2005). Conseqüentemente, há a ativação do processo regenerativo, que inclui a ativação e proliferação de novas células, que aqui no estudo do transcriptoma, está representado pelo aumento na expressão de genes do ciclo celular.

Comparando os gráficos de pizza (Figura 51, partes A e B) do camundongo *Dmd^{mdx}* de 21 dias com as duas outras linhagens da mesma idade, há uma evidente redução da participação das vias de ciclo celular e aumento de atividades de ECM e adesão, bem como de fagócitos e atividade enzimática nos modelos mais gravemente afetados nesta idade.

Nas idades de três e seis meses, é bem evidente que os perfis são mais homogêneos entre si na análise comparativa das três linhagens. Desta forma, as maiores diferenças com a idade ocorrem no modelo *Dmd^{mdx}*.

Curiosamente, o animal *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* não apresentou nenhuma função de divisão celular enriquecida, ou seja, a linhagem duplo-mutante não recebeu do *Dmd^{mdx}* essa característica tão marcante. Isso implica que esses animais, nessa idade, não estão conseguindo ativar de forma satisfatória o mecanismo de regeneração, o que pode explicar o maior comprometimento do tecido observado nos estudos histológicos, como a substituição por tecido conjuntivo (Martins *et al.*, 2013).

Outra categoria de funções biológicas que parece não ser transmitida para o duplo-mutante é a de matriz extracelular e adesão. Com 21 dias de idade, do total das 62 funções biológicas encontradas, 10% são da categoria ECM e adesão no *Large^{myd-/-}*; no *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* o percentual é de 5% do total de 60 funções. Porém, de modo geral, o perfil do duplo-mutante é mais semelhante ao seu parental *Large^{myd-/-}* que ao *Dmd^{mdx}*.

A segunda categoria mais representada no *Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}* é a de atividade enzimática/proteólise. Dos genes que se encaixaram nessas funções alguns são *Mmp19*, *Mmp12*, *Mmp8* e *Timp1*, envolvidos na degradação de componentes da matriz extracelular, logo o aumento da expressão desses genes é uma resposta à deposição de tecido fibroso que já está se formando no músculo. Entretanto, na idade seguinte a proteólise está menos ativa, voltando a aumentar aos seis meses.

Os demais genes são *Wfdc17*, *Serpine1*, *Serpina3*, *Serpina3k*, *Lgmn*, *Ctss*, *Cdkn1A*, *Stfa2/Stfa2l1*, *R3hdml*, *Asprv1*, *Adam8* e *Dpep2*. *Stfa2/Stfa2l1* codifica um inibidor de endopeptidase e foi o gene com maior valor de *fold change* no *Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}* com 21 dias (+4,8); na literatura não há muitas informações sobre suas funções. *R3hdml* também é um inibidor da atividade de peptidase, mas pouco se sabe sobre seu papel; o mesmo vale para a peptidase ASPRV1.

Para o *Large^{myd^{-/-}}*, a segunda categoria mais representada é a de matriz extracelular e adesão. Considerando que mutação no gene *Large* afeta a ligação de uma proteína que interage com o meio extracelular, é esperado que outros componentes da ECM sejam mais afetados.

Sistema imune e inflamação

Em todas as análises feitas, as funções com maior enriquecimento foram as de sistema imune e inflamação, sempre representando mais 55% das funções biológicas anotadas no *Gene Ontology*, isso pode ser até certo ponto, um indicador da gravidade dos tipos de distrofia muscular estudados: quanto mais severa a doença, maior expressão de genes da resposta imunológica. De fato, nas idades de 21 dias e seis meses, as duas linhagens com fenótipos mais severos, *Large^{myd^{-/-}}* e *Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}* estão com mais 70% das funções ligadas a processos imunológicos.

Essa representação marcante de genes envolvidos na imunidade e inflamação já foi reportada em trabalhos anteriores. No estudo do perfil de expressão do músculo gastrocnêmio medial, de camundongos *Dmd^{mdx}* com diferentes idades, a maior parte dos genes com expressão induzida pertence à resposta imune e inflamação (Marotta *et al.*, 2009). Porter *et al.* (2002) encontrou 242 genes com expressão diferencial no gastrocnêmio do *Dmd^{mdx}*, dos quais 29,8% foram classificados como genes de inflamação, determinando uma resposta inflamatória crônica. O mesmo é relatado por Haslett *et al.* (2005), Turk *et al.* (2005), Porter *et al.* (2004), e outros.

Em contrapartida, a proporção que os genes da imunidade e inflamação ocupa nos dados aqui obtidos é superior aos dados já publicados, atingindo até 88% das funções biológicas enriquecidas.

O processo inflamatório no músculo distrófico fundamenta um dos tratamentos mais usados para a DMD, que consiste no uso de glicocorticoides. Porém, os efeitos colaterais dos esteroides são prejudiciais; assim, a caracterização minuciosa dos fatores envolvidos na resposta imune nessas doenças é útil para o desenvolvimento de estratégias mais específicas para a redução da inflamação e seus efeitos que exacerbam a perda da função muscular, levando em consideração que a resposta imune produz tanto fatores negativos quanto positivos para músculo.

A deficiência de distrofina é a causa primária da distrofia muscular de Duchenne, porém não é o fator determinante para o desenvolvimento da doença (Rando, 2001). Mecanismos secundários, como a inflamação e ativação do sistema imunológico, têm uma participação substancial na fisiopatologia, modulando a manifestação das características da doença.

O sistema imune exerce um papel essencial no desenrolar da distrofia muscular e está fortemente correlacionado com a severidade da doença. O dano produzido nas miofibras decorrente da contração muscular gera um ciclo de necrose e regeneração celular. As miofibras necróticas são atacadas por macrófagos, linfócitos T, linfócitos B e células dendríticas. Ocorre também a liberação de moléculas solúveis e de adesão, que regulam essa resposta inflamatória, resultando em fibrose e, conseqüentemente, na disfunção da contração muscular.

As citocinas compreendem uma ampla família de pequenas proteínas importantes para a sinalização celular, incluindo os interferons, interleucinas, fatores de necrose tumoral, fatores transformadores de crescimento e quimiocinas. Essas citocinas estão todas relacionadas com a resposta inflamatória, que está especialmente ativada nas distrofias musculares, com ações pró e anti-inflamatórias.

As citocinas mais presentes nas distrofias musculares são as quimiocinas, que coordenam a ativação e direcionam a migração de leucócitos em direção ao tecido lesionado. As quimiocinas são originadas tanto por células do sistema imune, como pelas próprias células musculares, o que contribui para a perpetuação da inflamação crônica. As quimiocinas estão subdivididas em quatro famílias de acordo com a sua estrutura primária: C, CC, CXC e CX₃C, com seus ligantes e respectivos receptores. As quimiocinas da classe CXC atraem rapidamente os leucócitos na fase inicial da inflamação (Tidball e Villalta, 2010).

A inflamação aguda é uma resposta ao dano tecidual ou infecção caracterizada pela produção de fatores inflamatórios, que recrutam temporariamente leucócitos polimorfonucleados, e em seguida há o acúmulo de macrófagos (Nathan, 2006).

Depois do influxo inicial de leucócitos PMN, a fase seguinte da inflamação é comandada pelas quimiocinas CC, que recrutam subgrupos específicos de leucócitos, como macrófagos fagocitários (Mcquibban *et al.*, 2002).

Em DMD, algumas quimiocinas têm um efeito protetor por contribuírem na regulação da regeneração. As propriedades proliferativas da sinalização de CXCL1/2/3 por meio do receptor CXCR2 foram descritas em tecidos humanos. A expressão de CXCL1/2/3 está induzida nas fibras musculares em regeneração de pacientes com DMD, e fibras musculares necróticas são positivas para o receptor CXCR2 (De Paepe *et al.*, 2012).

Em oposição, as quimiocinas podem ter efeitos tóxicos, pró-inflamatórios. Em pacientes com DMD, macrófagos M1 expressam diversas quimiocinas: CXCL8, CCL2 e CCL5. CCL2 tem como alvo linfócitos T, que então podem estimular a inflamação, amplificando o processo (De Paepe *et al.*, 2012).

O trabalho de Porter e colaboradores (2003) é o estudo mais completo encontrado na literatura sobre a expressão de quimiocinas no *Dmd^{mdx}*. No músculo do *Dmd^{mdx}* a expressão de CCLs (*Ccl2*, *Ccl5*, *Ccl6*, *Ccl7*, *Ccl8* e *Ccl9*) e CCRs (*Ccr2*, *Ccr1* e *Ccr5*) específicas para o recrutamento de macrófagos e linfócitos T está aumentada, o que pode funcionar como regulação positiva da resposta inflamatória na distrofia muscular; e essas quimiocinas são produzidas tanto por células mononucleadas quanto pelas próprias fibras musculares (Porter, Guo, *et al.*, 2003).

Além da capacidade de atrair leucócitos, quimiocinas da classe CC podem atuar diretamente nas células musculares, ativando a proliferação dos mioblastos no músculo lesado. Tanto macrófagos quanto células musculares expressam o receptor CCR2 (receptor de CCL2, CCL7 e CCL8) e a sinalização por meio desse receptor está envolvida na regeneração muscular após lesões, tanto que a deficiência de CCR2 resulta em atraso no processo regenerativo, acompanhado de inflamação prolongada, aumento no acúmulo de gordura e fibrose em camundongos (Warren *et al.*, 2005). CCL2, CCL3 e CCL4 são capazes de estimular mioblastos a entrarem na fase S do ciclo celular pela indução da via MAPK (Yahiaoui *et al.*, 2008).

Assim, a CCL2 tem importância tanto na promoção da inflamação, quanto na regeneração muscular. A superexpressão de *Ccl2* foi identificada em todas as linhagens distróficas, e em todas as idades, com exceção da linhagem *Large^{myd}* com seis meses de idade. O gene do receptor *Ccr2* também está superexpresso nos animais com aumento na expressão de *Ccl2*, exceto nos camundongos *Large^{myd/-}* 21 dias, *Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}* 21 dias e *Large^{myd/-}* 3 meses. Os genes *Ccl5* e *Ccl8* relatados no trabalho de Porter e colaboradores também apresentaram expressão elevada, com adição de *Ccl3L1* e *Ccl21* (este último apenas em *Large^{myd/-}* 6 meses). Os receptores das demais quimiocinas encontradas

também estão com expressão elevada (*Ccr1*, *Ccr3* e *Ccr5*), indicando que a sinalização dessas moléculas possa estar realmente ativada.

Todas as linhagens estudadas têm expressão ativada dos genes das quimiocinas *Ccl6*, *Ccl7* e *Ccl9*. *Ccl6* é expresso por eosinófilos e também por macrófagos depois que eles se movem para o tecido, atraindo mais monócitos. Foi sugerido que *Ccl6* possa ser permanentemente ativo na manutenção da inflamação promovida por macrófagos, que são inicialmente atraídos por MCP-1 (*Ccl2*) (Wu, Prystowsky e Orlofsky, 1999). Tal sugestão se aplica ao observado aqui, já que todas as linhagens superexpressam *Ccl6*, independentemente da idade.

Ccl7 atrai eosinófilos e células dendríticas; *Ccl9* tem expressão ubíqua e recruta linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ (Porter, Guo, *et al.*, 2003).

Em resumo, as quimiocinas CC são moléculas que podem regular as subpopulações de macrófagos (tratadas mais abaixo) e outros leucócitos dentro do músculo lesionado, bem como a persistência da inflamação e a eficácia do remodelamento do tecido.

Nas análises de enriquecimento de vias (Kegg) feitas nas comparações com os animais controle, as vias "*Cytokine-cytokine receptor interaction*" e "*Chemokine signaling pathway*" estão presentes em todas as linhagens distróficas, nas três idades. Isso é uma indicação de que o recrutamento de células inflamatórias mediado por quimiocinas ocorre o tempo todo, e não de forma restrita à idade de dois meses como já foi proposto (Porter, Guo, *et al.*, 2003).

Nesse trabalho também não foi encontrada expressão alterada de quimiocinas da classe CXC, exceto CXCL14. Isso não era esperado, pois CXCLs atraem neutrófilos e células NK, células ativas no início da doença. Em contrapartida, encontramos a superexpressão de *Cxcl10*, *Cxcl13* e *Cxcl14*, mas não de receptores CXCR.

Não encontramos estudos sobre a expressão de quimiocinas nas distrofias musculares congênitas; na linhagem *Large*^{myd^{-/-}} e no duplo-mutante encontramos que os genes dessas proteínas estão induzidos, assim, podemos dizer que a atração de células inflamatórias pela ação dessas citocinas é um fator em comum ao processo distrófico em geral, incluindo tanto as distrofinopatias, como as de defeito de glicosilação.

No músculo normal, um dano agudo provoca a resposta imune inata de forma bem característica, na qual a invasão de neutrófilos é seguida pela invasão de populações de macrófagos dos tipos M1 e M2. No entanto, no músculo cronicamente sujeito a injúrias, a inflamação é dominada pela infiltração de células mieloides, como ocorre na distrofia muscular de Duchenne, distrofia muscular congênita e distrofia muscular de cinturas 2B. Macrófagos, mastócitos, neutrófilos, eosinófilos e linfócitos T citotóxicos, todos contribuem para a patogênese dessas condições miopáticas, mas é sabido que apenas macrófagos, e talvez eosinófilos, contribuem para a regeneração muscular (Tidball e Villalta, 2010).

Tanto em pacientes com DMD, quanto no camundongo *Dmd^{mdx}* o início da manifestação da doença coincide com o início da inflamação muscular, sugerindo um papel regulatório das células inflamatórias. Camundongos *Dmd^{mdx}* que tiveram seus macrófagos removidos antes do início da doença tiveram uma grande redução nos sinais histopatológicos (Wehling, Spencer e Tidball, 2001).

O curso da inflamação nos estágios iniciais da distrofia no *Dmd^{mdx}* compartilha algumas semelhanças com a resposta imune inata que ocorre a injúrias agudas no músculo saudável. A população inicial de células que invade o músculo distrófico é composta por neutrófilos e macrófagos M1, que são capazes de remover restos celulares produzidos pela lesão oxidativa e de produzir citocinas capazes de promover a fase proliferativa da miogênese (Tidball e Villalta, 2010).

Diferentemente do que ocorre no tecido saudável, o influxo de macrófagos M1 é acompanhado pela invasão concomitante de macrófagos M2a, que normalmente ocorre em estágios mais tardios da inflamação. Como macrófagos M1 produzem NO, que aumenta a lesão muscular, e macrófagos M2 são capazes de reduzir a produção de NO, a entrada simultânea dessas duas populações seria importante para minimizar os efeitos prejudiciais causados pelos macrófagos M1. No *Dmd^{mdx}* a transição da fase de intensa necrose para a fase com menor necrose e regeneração é acompanhada pela transição na população de macrófagos M1 e M2a para uma população de macrófagos M2c, prevalentes no músculo em regeneração (Villalta *et al.*, 2009).

Os genes *Cd68*, *Mpeg1* e *Msr1* são expressos por macrófagos e estão superexpressos em todas as linhagens e idades de camundongos estudados neste trabalho. *Cd68* é típico de macrófagos M1.

A autoimunidade pode surgir quando proteínas intracelulares são liberadas em excesso na corrente sanguínea e conseqüentemente estimulam a resposta imune, o como já foi visto em tecidos amplamente lesionados, e o mesmo acontece constantemente no músculo distrófico com o rompimento celular devido à atividade muscular. Logo, essas proteínas livres podem ser capturadas por células apresentadoras de antígenos, que ativam linfócitos T, levando ao agravamento da patologia pela destruição de células próprias.

A autorreatividade de linfócitos T requer a apresentação dos antígenos por moléculas MHC de classe I ou II de células apresentadoras de antígenos. O músculo saudável não expressa MHC classe I, nem MHC classe II (Mcdouall, Dunn e Dubowitz, 1989), mas algumas fibras do músculo deficiente em distrofina expressa MHC classe I (Emslie-Smith, Arahata e Engel, 1989). Dessa forma, até mesmo as próprias células musculares podem atuar como apresentadoras de antígenos, pois já foi visto que o músculo adulto tem em sua superfície moléculas coestimulatórias para a ativação de

células T (Behrens *et al.*, 1998). As células musculares não expressam MHC classe II, mas há a expressão dessas moléculas por outros tipos celulares presentes no órgão.

A depleção de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ também reduz a patologia (Spencer *et al.*, 2001). Camundongos *Dmd*^{mdx} cruzados com camundongos deficientes em linfócitos B e T têm fibrose reduzida, sugerindo que a contribuição de linfócitos para a patologia provenha da estimulação da fibrose, que dificulta a regeneração (Farini *et al.*, 2007).

As distrofias musculares permanecem sem tratamento, mas diversas estratégias de tratamento estão em estudo, incluindo a terapia gênica com vetores contendo mini-distrofina. Entretanto, os resultados obtidos até o momento indicam que essas terapias ativam a imunidade mediada por células T que atacam a distrofina exógena. Isso mostra o quanto importante é o monitoramento da resposta imune nos experimentos de terapias que objetivam o aumento do número de fibras musculares expressando distrofina (Flanigan *et al.*, 2013).

Outro componente do sistema imunológico que pode contribuir negativamente para a patologia das distrofias musculares é o sistema complemento, composto por proteínas circulantes que se ligam aos antígenos, atraindo neutrófilos e monócitos e formam complexos na membrana da célula ser destruída, facilitando a sua lise.

O envolvimento do sistema complemento com a distrofia muscular está mais caracterizado nas disferlinopatias. A deficiência de disferlina aumenta a expressão de fatores do sistema complemento; a remoção do gene *C3* melhora os aspectos musculares do camundongo modelo dessa doença, mostrando a forte contribuição do sistema complemento no desenvolvimento da patologia (Han *et al.*, 2010). Camundongos deficientes em disferlina e linfócitos apresentam melhora na regeneração muscular, com redução na quantidade de macrófagos e deposição de proteínas do complemento (Farini *et al.*, 2012).

Dessa forma, a ativação de proteínas do sistema complemento constitui mais um mecanismo pelo qual o sistema imune agrava a lesão no músculo distrófico. Todos os animais estudados apresentaram maior expressão dos genes *C1qb* e *C3ar1* que são do sistema complemento.

4. Caracterização do perfil de cada linhagem

4.1. Análise do número de genes diferencialmente expressos - efeito da idade na evolução de cada linhagem

Os diagramas das figuras 54, 55 e 56 (seção 7.1) reúnem o total de genes diferencialmente expressos de todas as linhagens em relação ao controle, mostrando quantos genes estão sempre alterados (centro dos diagramas) e aqueles que estão desregulados especificamente em uma determinada idade (partes externas dos diagramas).

A linhagem *Dmd^{mdx}* é a que apresenta o maior número de genes desregulados (577 genes no total), sendo a idade de 21 dias com maior parte do total. A partir desses números podemos concluir que a fase juvenil é que causa a maior perturbação no transcriptoma, seguida de uma estabilização na idade adulta. Os números encontrados neste trabalho são superiores aos já reportados na literatura, mas que seguem essa mesma tendência de haver mais genes afetados nos estágios mais iniciais e menos genes conforme a doença se estabiliza, como consequência da deficiência de distrofina neste modelo.

A linhagem *Large^{myd^{-/-}}* tem no total 343 genes diferencialmente expressos; com o número de genes específicos de cada idade aumentando progressivamente. Ao contrário do que é visto no *Dmd^{mdx}*, é aos seis meses que ocorre a maior alteração no transcriptoma, fase na qual o camundongo *Large^{myd^{-/-}}* está bem debilitado.

A linhagem *Dmd^{mdx}/Large^{myd^{-/-}}* em uma quantidade semelhante de genes que o *Large^{myd^{-/-}}* (376 genes no total), e também com aumento progressivo com o avanço da idade. Contudo, o maior número de genes está nas idades de três e seis meses. Assim, nessa linhagem as maiores alterações se encontram na fase adulta, sendo que as idades de três e seis meses têm boa parte dos genes compartilhados entre si (150 genes).

Comparando as três linhagens, fica evidente que o perfil de expressão do *Dmd^{mdx}* segue um padrão distinto dos outros dois modelos: mais genes são alterados e as alterações se concentram mais no estágio inicial da doença.

4.2. Redes gênicas – o que está diferente em cada linhagem em relação às demais, na mesma idade?

As funções e doenças que foram atribuídas às redes gênicas pelo programa não diferem muito entre as linhagens, e nem do que foi visto com as análises mais gerais. Logo, podemos entender que apesar de haver diferenças nos genes que são diferentemente expressos especificamente nas linhagens, esses genes atuam em processos

similares, valendo-se de caminhos sutilmente distintos, mas que provocam as mesmas consequências: degeneração e regeneração.

Dmd^{mdx}

21 dias

A principal rede formada para essa linhagem mostra as relações entre 33 genes, que exercem funções relacionadas com o ciclo celular. Isso reitera o que encontramos na classificação funcional de todos os genes diferencialmente expressos, confirmando a relevância biológica dessas vias nos camundongos *Dmd^{mdx}* jovens. E também é uma evidência de que o processo de regeneração está fortemente ativo, diferentemente dos outros modelos. Assim, estudos mais aprofundados desses genes são necessários.

3 meses

A rede da figura 58 mostra a interação de alguns dos genes que estão particularmente expressos de forma diferencial no *Dmd^{mdx}* aos três meses. Essa rede está mais implicada com a resposta imunológica, o que é concordante com as outras análises funcionais.

6 meses

A rede da figura 59 integrou genes que participam do metabolismo de lipídios, transporte molecular, e bioquímica de pequenas moléculas. Recentemente, o estudo do transcriptoma de músculos em processo de regeneração após lesão com glicerol e cardiotoxina, revelou que o comprometimento adipogênico é uma marca da regeneração muscular, o que pode levar ao acúmulo anormal de adipócitos (Lukjanenko *et al.*, 2013). A substituição de fibras musculares por tecido adiposo, durante o processo distrófico também é bem descrito (Pastoret e Sebillé, 1995).

Large^{myd^{-/-}}

21 dias

A rede da figura 60 mostra as interações que três dos oito genes especificamente expressos no *Large^{myd^{-/-}}* têm com outros genes. O gene *Ifi202b* ativa os genes *Myog* e *Myod1*, dois fatores de transcrição diretamente envolvidos na diferenciação muscular. Entretanto a superexpressão de *Ifi202b* em mioblastos inibe a expressão de *Myod*, interferindo na sua atividade e, conseqüentemente, inibe a indução da diferenciação de mioblastos (Datta *et al.*, 1998). Assim sendo, é possível que nessa fase, por conta da superexpressão de *Ifi202b*, a diferenciação muscular no *Large^{myd^{-/-}}* seja menos eficiente.

Agtr2 é expresso pelas células satélite. Recentemente foi descoberto que a sinalização da angiotensina-2 impede a regeneração muscular por suprimir a função das células satélite (Yoshida *et al.*, 2013). Dessa forma, o aumento da expressão do receptor *Agtr2* poderia estar, de forma indireta, dificultando a regeneração, assim como *Ifi202b*.

3 meses

A rede formada com os genes do *Large^{myd-/-}* com três meses está implicada na morfologia tecidual, sobrevivência e morte celular, e desenvolvimento e função do tecido conectivo, que tem bastante importância nessa linhagem, que apresenta bastante deposição de tecido fibroso em substituição à perda de tecido muscular. Os quatro genes dessa rede (*Chil3/Chil4*, *Klk3*, *Map1b* e *Npnt*) ainda não foram relacionados com a distrofia muscular.

6 meses

Os genes agrupados na rede mais significativa formada com os 81 genes do *Large^{myd-/-}* atuam em doenças metabólicas e do tecido conectivo, e na resposta inflamatória. Mesmo a inflamação sendo um aspecto compartilhado pelas diferentes formas de distrofia muscular, o camundongo *Large^{myd-/-}* tem outros genes com expressão diferencial com essa função; em outras palavras, além das vias inflamatórias comuns ao processo distrófico, nessa linhagem há a participação de outros componentes correlacionados.

Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}

21 dias

A rede gênica mais significativa proposta pela análise computacional para os 12 genes com expressão diferencial apenas no duplo-mutante com 21 dias de idade está correlacionada com a morte e sobrevivência celular, e o desenvolvimento celular. Não encontramos na literatura informações sobre o papel de *Anxa8*, que possam ter relação com o músculo esquelético.

Camundongos deficientes em *Homer1*, um regulador da sensibilidade de canais TRP (receptor transiente de potencial) exibem miopatia, caracterizada por redução na geração de força, refletindo em dano muscular por aumento do influxo de cálcio (Stiber *et al.*, 2008). A isoforma *Homer2*, está hipoeexpressa no duplo-mutante e poderia estar envolvida em um mecanismo similar, e já foi reportado que a sua superexpressão aumenta a diferenciação de miotubos (Stiber *et al.*, 2005). Logo, é possível que a subexpressão de *Homer2* pode contribuir para o fenótipo mais grave do duplo-mutante.

3 meses

O nó no centro da rede da figura X, UBC (ubiquitina C) chama a atenção porque a proteólise controlada via a degradação mediada por ubiquitinas é crucial para o desenvolvimento e manutenção do músculo. O gene *Asb2* está conectado com UBC nesta rede; é sabido que *Asb2* está envolvido na diferenciação muscular, pois marca a proteína FLNb (envolvida no remodelamento da actina, evento importante para a diferenciação muscular) para a destruição, e está com expressão induzida em mioblastos em diferenciação, no mesmo momento em ocorre a expressão de miogenina. Foi visto também que a inativação de *Asb2* por RNA de interferência atrasa a formação dos miotubos (Bello *et al.*, 2009).

Com base nessas informações e dado que *Asb2* está subexpresso no *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}*, é possível que a regeneração no músculo desses animais esteja comprometida e não ocorra de forma eficiente, contribuindo ainda mais para a degradação do tecido.

6 meses

É interessante que aos seis meses de idade a linhagem *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* tenha a expressão aumentada de genes de desenvolvimento embrionário; talvez isso seja o reflexo de uma tentativa de regeneração do tecido, mas que permanece apenas no nível transcricional, já que nessa fase o animal está muito comprometido e no final de sua vida.

5. Caracterização do modelo *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}*

5.1. Comparações com as linhagens parentais

O pequeno número de genes desregulados no *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* em comparação com as linhagens parentais indica a proximidade entre eles, e que a junção das duas linhagens leva a uma perturbação pequena na transcrição de novos genes. A maior diferença está na comparação do *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* com o *Dmd^{mdx}*, (tabela 22) com 130 genes, sendo 124 subexpressos, dos quais apenas 41 estão superexpressos no *Dmd^{mdx}*, ou seja, no duplo-mutante alguns genes assumem um comportamento distinto do que ocorre na linhagem parental. Seria esperado que a grande maioria desses genes fosse aqueles que estão envolvidos com a proliferação celular (e superexpressos) no *Dmd^{mdx}*, mas a maior parte desses genes está implicada em vias do sistema imunológico. Isso sugere que a resposta imune no duplo-mutante seja menos intensa que no *Dmd^{mdx}*.

Quatro estão envolvidos na regulação positiva da proliferação celular: *Clec11a*, *CD28*, *Derl2* e *Il15*; e dois com o ciclo celular: *Haus8* e *Gadd45gip1*. Esses genes merecem ser estudados com mais atenção. Dos 41 genes listamos também os seguintes: *Mup1*,

Ifi204, *Retnla*, *Slamf7*, *Cyp4f2*, *Fcrls*, *Oas1* que apresentam valores de *fold change* maiores que -1,5.

Ifi204 produz uma proteína que tem seus níveis aumentados durante a fusão de mioblastos sob a ação do fator de transcrição MyoD. A superexpressão de *Ifi204* acelera a fusão de mioblastos (Liu *et al.*, 2000), pois diminui o nível das proteínas Id, conhecidas por inibirem a diferenciação muscular via bloqueio de MyoD, dentre outras proteínas miogênicas (Liu *et al.*, 2002). Com base nessas informações podemos dizer que no *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* a subexpressão de *Ifi204* (em relação ao *Dmd^{mdx}*) está dificultando a diferenciação miogênica, ao contrário do *Dmd^{mdx}* que está superexpressando esse mesmo gene e apresenta um melhor potencial de regeneração.

Não encontramos informações na literatura para discutir o papel dos demais genes, mas eles podem ser candidatos para explicar as diferenças fenotípicas vistas nessas duas linhagens.

A sobreposição das listas de genes com expressão diferencial em cada uma das idades estudadas no duplo-mutante mostrou que essa linhagem tem 59 genes que se mantêm alterados na linhagem, independentemente da idade. Destes 59, 31 são os genes comuns ao processo distrófico, restando os 28 genes que estão nas tabelas 39 e 40, dos quais sete estão presentes na linhagem *Large^{myd-/-}* e 20 na *Dmd^{mdx}*, restando apenas um gene que está sempre superexpresso somente no *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}*. Mais uma vez, a junção das duas linhagens não leva a perturbação da transcrição gênica no animal gerado, sem alteração de vias diferentes daquelas já alteradas nos parentais. Entretanto, o que ocorre não é apenas uma soma dos genes alterados em cada linhagem, pois o número de GDEs no duplo-mutante é inferior à soma simples dos GDEs no *Dmd^{mdx}* e no *Large^{myd-/-}*. Assim, apenas parte dos genes com expressão diferencial nas linhagens parentais também terão expressão alterada no duplo-mutante.

Mesmo assim, quando comparamos as vias KEGG obtidas para as linhagens *Large^{myd-/-}* e *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* vemos que as duas têm listas bastante semelhantes, e vias que estão ativadas no *Dmd^{mdx}* não estão ativadas no duplo-mutante. Assim, o perfil de expressão do *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* é mais próximo do parental *Large^{myd-/-}*.

Genes "herdados" do Large^{myd-/-}

Seis genes que estão superexpressos no *Large^{myd-/-}* também estão no *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}*, além do gene *Large*, que está subexpresso. Destes podemos destacar *Mmp19*, que degrada uma série de componentes da matriz extracelular, incluindo colágeno tipo IV, fibronectina e laminina (Stracke *et al.*, 2000).

Genes "herdados" do Dmd^{mdx}

Na tabela 40 estão os 20 genes que apresentam expressão diferencial no Dmd^{mdx} e também no $Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}$.

O gene *Atp6v0d2* codifica uma subunidade de uma ATPase vacuolar, importante para a acidificação do meio extracelular na reabsorção óssea (Wu, Xu e Li, 2009), mas não há trabalhos na literatura que a associem a alguma função no músculo esquelético.

Dos demais genes, alguns foram discutidos anteriormente e para os demais não encontramos informações que ajudem a relacioná-los com o fenótipo distrófico.

Gene exclusivamente alterado no modelo do duplo mutante

O único gene que apresentou expressão diferencial apenas no $Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}$ em todas as idades foi *Lilrb3*, que codifica um receptor expresso em células imunes, nas quais ele se liga a moléculas MHC classe I e transduz um sinal negativo que inibe o estímulo de uma resposta imune. Acredita-se que ele controle as respostas inflamatórias e a citotoxicidade, limitando a autorreatividade (Anderson e Allen, 2009). Na literatura não há informações que ajudem a relacionar o aumento da expressão de *Lilrb3* com o fenótipo mais grave do duplo-mutante.

5.2. Análise e redes funcionais (IPA) do $Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}$

A análise funcional feita no programa IPA mostrou os processos biológicos mais afetados no duplo-mutante (Tabelas 42 a 44 e Figuras 67 a 72); as mesmas categorias foram encontradas em todas as idades, variando apenas a ordem de significância entre elas. Esses dados reiteram o que foi observado com as outras análises, e mostram que os processos alterados nesse animal são os mesmos, independentemente da idade. O que varia entre as idades é quantidade de moléculas envolvidas nos processos, com mais genes participando das vias conforme o animal envelhece.

A seguir, serão discutidos alguns pontos das redes gênicas formadas com todos os genes diferencialmente expressos no $Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}$.

Nas redes das Figuras 67 e 70 (rede 1, 21 dias e rede 2, 3 meses) destacam-se genes da degradação de colágeno, as metaloproteinases *Mmp12* (discutida anteriormente), *Mmp19*, *Mmp3*, *Mmp14* e *Mmp8*, mostrando que há ao menos uma tentativa de se reduzir a quantidade de tecido fibroso que é depositada no músculo.

Na rede 2 dos 21 dias (Figura 68), os genes *mir154*, *Chrng*, *Tnnt2*, *Myh3*, *Ccr1* e *Tyrobp* estão diretamente envolvidos com doenças musculares. O *mir154* está

superexpresso na distrofia muscular de Duchenne e em algumas formas de distrofia muscular de cinturas (Eisenberg *et al.*, 2007).

Os genes (rede 1, 3 meses) (Figura 69) *Cyba*, *Cybb*, *Ltf*, *Col6a3*, *Igf2*, *Ncam1*, *Chrna1*, *Chrng*, *Nos1*, *S100a9*, *S100a8*, *Atp6v0d2*, *Rgs10*, *Myh3*, *Myh8*, *Myl4*, *Tnnt2*, *Tmsb4x* e *Myog* estão todos envolvidos no desenvolvimento muscular e em doenças musculares, de acordo com as análises do programa.

As duas redes da análise do animal com seis meses mostram a interação de genes da resposta imunológica.

6. Validação do perfil de expressão por PCR em tempo real quantitativo

A quantidade de genes identificados como diferencialmente expressos é muito extensa e é provável que alguns genes não estejam realmente com expressão alterada, assim a validação por PCR em tempo real quantitativo é um procedimento padrão.

Todos os genes testados apresentaram a mesma tendência de expressão, confirmando a reprodutibilidade e confiabilidade dos experimentos com os microarranjos.

Conclusões

1. O que caracteriza o processo distrófico?

Os resultados de todas as análises funcionais apontam para uma forte participação de genes e vias do sistema imunológico na patologia das distrofias musculares, a despeito da mutação primária ou estágio de evolução da doença.

O conjunto de 31 genes compartilhados por todos os animais estudados revelam pontos importantes do processo distrófico como um todo. O primeiro ponto é a importância da ativação via de sinalização de quimiocinas, que atuam em duas frentes distintas: a promoção da inflamação e o estímulo à regeneração. Parte desses genes também está diretamente relacionada com outros componentes da resposta imunológica.

Os demais genes têm mais participação na regulação do equilíbrio entre os processos de degeneração/regeneração e modulação da matriz extracelular.

2. Quais são as mudanças com a evolução da doença?

Para as linhagens em geral, a quantidade de genes de uma idade para a outra aumenta: 63 genes aos 21 dias, 88 aos três meses e 127 aos seis meses. Aos 21 dias destacamos a participação de genes do ciclo celular, de fibras imaturas e degeneração.

Aos três meses, é interessante a atuação do gene *Capn6*, modulando o desenvolvimento muscular. Aos seis meses, destacam-se os genes de colágeno, relacionados com a deposição de matriz extracelular em substituição à perda do tecido muscular; e também a subexpressão de *Mstn* indicando a ativação de mecanismos que possam favorecer o aumento do tecido muscular.

Na fase juvenil, para as linhagens *Large^{myd-/-}* e *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}* a contribuição do sistema imune e inflamação é o fator principal. Para o *Dmd^{mdx}*, a proliferação celular tem um papel mais significativo. O estudo aprofundamento dos genes envolvidos nessa função é interessante e necessário, pois eles são candidatos a serem os genes responsáveis pelo fenótipo menos grave dessa linhagem.

Na fase adulta, para o *Large^{myd-/-}* e *Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}*, a resposta imune reduz um pouco a sua representação, porém ainda é majoritária. O perfil do *Dmd^{mdx}* já parece mais semelhante às outras duas linhagens.

3. O que diferencia cada linhagem? Como é a evolução de cada linhagem?

Em relação às funções e vias biológicas que são afetadas, as linhagens pouco se diferenciam, exceto a linhagem *Dmd^{mdx}* com 21 dias. De forma geral, apesar da mutação primária em cada camundongo ser distinta, as vias e processos biológicos que desencadeiam na distrofia muscular são muito semelhantes; as diferenças se concentram mais em quais genes são afetados.

Quanto ao número de genes afetados, novamente na idade de 21 dias que estão as maiores diferenças: o *Dmd^{mdx}* tem muito mais genes especificamente alterados apenas nele. Nas idades seguintes, a quantidade de genes específicos reduz consideravelmente.

Para a linhagem *Large^{myd/-}*, na idade de 21 dias há poucos genes que estão exclusivamente expressos nela, sugerindo que a doença está sendo regulada mais por genes gerais do processo distrófico. Aos três meses essa tendência é semelhante, mas é importante ressaltar que 61 genes são compartilhados com o duplo-mutante, assim, podemos dizer que nessa idade o *Large^{myd/-}* já passa a se diferenciar mais em relação ao *Dmd^{mdx}*. Aos seis meses, ocorre um grande incremento na quantidade de genes específicos no *Large^{myd/-}*, mas muitos genes são comuns com os outros dois.

4. O que o duplo mutante tem de diferente?

O *Dmd^{mdx}/Large^{myd/-}* carrega um pouco de cada uma de suas linhagens parentais, havendo mais semelhanças do que diferenças. Analisando a linhagem como um todo, podemos concluir que a maior parte de suas características se deve aos genes que estão regulando a fisiopatologia da distrofia muscular em todas as linhagens; sendo que grande parte dos genes que aparecem desregulados no parental *Dmd^{mdx}* não apresentam o mesmo comportamento no duplo-mutante. Pela quantidade de genes alterados e pelas funções biológicas afetadas, o duplo-mutante se assemelha mais com o parental *Large^{myd/-}* sugerindo que a hipoglicosilação não traz maiores consequências quando associada ao defeito estrutural na distrofina. Em resumo, o duplo-mutante, apresenta poucas diferenças em relação ao *Large^{myd/-}* e não apresenta as características peculiares ao *Dmd^{mdx}*, principalmente no início do desenvolvimento da doença.

Referências bibliográficas

ABDUL-HUSSEIN, S.; VAN DER VEN, P. F.; TAJSHARGHI, H. Expression profiles of muscle disease-associated genes and their isoforms during differentiation of cultured human skeletal muscle cells. **BMC Musculoskelet Disord**, v. 13, p. 262, 2012. ISSN 1471-2474. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23273262> >.

ALDERTON, J. M.; STEINHARDT, R. A. How calcium influx through calcium leak channels is responsible for the elevated levels of calcium-dependent proteolysis in dystrophic myotubes. **Trends Cardiovasc Med**, v. 10, n. 6, p. 268-72, Aug 2000. ISSN 1050-1738. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11282306> >.

ALLEN, D. G.; WHITEHEAD, N. P. Duchenne muscular dystrophy--what causes the increased membrane permeability in skeletal muscle? **Int J Biochem Cell Biol**, v. 43, n. 3, p. 290-4, Mar 2011. ISSN 1878-5875. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21084059> >.

ALLIKIAN, M. J.; MCNALLY, E. M. Processing and assembly of the dystrophin glycoprotein complex. **Traffic**, v. 8, n. 3, p. 177-83, Mar 2007. ISSN 1398-9219. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17274800> >.

ALLOCCO, D. J.; KOHANE, I. S.; BUTTE, A. J. Quantifying the relationship between co-expression, co-regulation and gene function. **BMC Bioinformatics**, v. 5, p. 18, Feb 2004. ISSN 1471-2105. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15053845> >.

AN, H. B. et al. Partial least squares based identification of Duchenne muscular dystrophy specific genes. **J Zhejiang Univ Sci B**, v. 14, n. 11, p. 973-82, Nov 2013. ISSN 1862-1783. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24190443> >.

ANDERSON, J. E. A role for nitric oxide in muscle repair: nitric oxide-mediated activation of muscle satellite cells. **Mol Biol Cell**, v. 11, n. 5, p. 1859-74, May 2000. ISSN 1059-1524. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10793157> >.

ANDERSON, K. J.; ALLEN, R. L. Regulation of T-cell immunity by leucocyte immunoglobulin-like receptors: innate immune receptors for self on antigen-presenting cells. **Immunology**, v. 127, n. 1, p. 8-17, May 2009. ISSN 1365-2567. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19368561> >.

BABAN, D.; DAVIES, K. E. Microarray analysis of mdx mice expressing high levels of utrophin: therapeutic implications for dystrophin deficiency. **Neuromuscul Disord**, v. 18, n. 3, p. 239-47, Mar 2008. ISSN 0960-8966. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18343112> >.

BAKAY, M. et al. A web-accessible complete transcriptome of normal human and DMD muscle. **Neuromuscul Disord**, v. 12 Suppl 1, p. S125-41, Oct 2002. ISSN 0960-8966. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12206807> >.

BARON, D. et al. Immune response and mitochondrial metabolism are commonly deregulated in DMD and aging skeletal muscle. **PLoS One**, v. 6, n. 11, p. e26952, 2011. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22096509> >.

BAUMEISTER, A.; ARBER, S.; CARONI, P. Accumulation of muscle ankyrin repeat protein transcript reveals local activation of primary myotube endcompartments during muscle morphogenesis. **J Cell Biol**, v. 139, n. 5, p. 1231-42, Dec 1997. ISSN 0021-9525. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9382869> >.

BEHRENS, L. et al. Human muscle cells express a functional costimulatory molecule distinct from B7.1 (CD80) and B7.2 (CD86) in vitro and in inflammatory lesions. **J Immunol**, v. 161, n.

11, p. 5943-51, Dec 1998. ISSN 0022-1767. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9834075> >.

BELLINGER, A. M. et al. Hypernitrosylated ryanodine receptor calcium release channels are leaky in dystrophic muscle. **Nat Med**, v. 15, n. 3, p. 325-30, Mar 2009. ISSN 1546-170X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19198614> >.

BELLO, N. F. et al. The E3 ubiquitin ligase specificity subunit ASB2beta is a novel regulator of muscle differentiation that targets filamin B to proteasomal degradation. **Cell Death Differ**, v. 16, n. 6, p. 921-32, Jun 2009. ISSN 1476-5403. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19300455> >.

BELTRÁN-VALERO DE BERNABÉ, D. et al. Mutations in the O-mannosyltransferase gene POMT1 give rise to the severe neuronal migration disorder Walker-Warburg syndrome. **Am J Hum Genet**, v. 71, n. 5, p. 1033-43, Nov 2002. ISSN 0002-9297. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12369018> >.

BOER, J. M. et al. Expression profiling in stably regenerating skeletal muscle of dystrophin-deficient mdx mice. **Neuromuscul Disord**, v. 12 Suppl 1, p. S118-24, Oct 2002. ISSN 0960-8966. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12206806> >.

BRAND-SABERI, B.; CHRIST, B. Genetic and epigenetic control of muscle development in vertebrates. **Cell Tissue Res**, v. 296, n. 1, p. 199-212, Apr 1999. ISSN 0302-766X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10199980> >.

BRIGUET, A. et al. Histological parameters for the quantitative assessment of muscular dystrophy in the mdx-mouse. **Neuromuscul Disord**, v. 14, n. 10, p. 675-82, Oct 2004. ISSN 0960-8966. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15351425> >.

BROCKINGTON, M. et al. Mutations in the fukutin-related protein gene (FKRP) cause a form of congenital muscular dystrophy with secondary laminin alpha2 deficiency and abnormal glycosylation of alpha-dystroglycan. **Am J Hum Genet**, v. 69, n. 6, p. 1198-209, Dec 2001. ISSN 0002-9297. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11592034> >.

BROWNING, C. A. et al. A rapid PCR method for genotyping the Large(myd) mouse, a model of glycosylation-deficient congenital muscular dystrophy. **Neuromuscul Disord**, v. 15, n. 5, p. 331-5, May 2005. ISSN 0960-8966. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15833424> >.

BUCKINGHAM, M. Skeletal muscle formation in vertebrates. **Curr Opin Genet Dev**, v. 11, n. 4, p. 440-8, Aug 2001. ISSN 0959-437X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11448631> >.

_____. Myogenic progenitor cells and skeletal myogenesis in vertebrates. **Curr Opin Genet Dev**, v. 16, n. 5, p. 525-32, Oct 2006. ISSN 0959-437X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16930987> >.

BULFIELD, G. et al. X chromosome-linked muscular dystrophy (mdx) in the mouse. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 81, n. 4, p. 1189-92, Feb 1984. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6583703> >.

CAMPBELL, K. P.; KAHL, S. D. Association of dystrophin and an integral membrane glycoprotein. **Nature**, v. 338, n. 6212, p. 259-62, Mar 1989. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2493582> >.

CATALA, F. et al. A skeletal muscle-specific enhancer regulated by factors binding to E and CArG boxes is present in the promoter of the mouse myosin light-chain 1A gene. **Mol Cell Biol**,

v. 15, n. 8, p. 4585-96, Aug 1995. ISSN 0270-7306. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7623850> >.

CHEN, Y. W. et al. Expression profiling in the muscular dystrophies: identification of novel aspects of molecular pathophysiology. **J Cell Biol**, v. 151, n. 6, p. 1321-36, Dec 2000. ISSN 0021-9525. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11121445> >.

CLARK, K. A. et al. Striated muscle cytoarchitecture: an intricate web of form and function. **Annu Rev Cell Dev Biol**, v. 18, p. 637-706, 2002. ISSN 1081-0706. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12142273> >.

DANGAIN, J.; VRBOVA, G. Muscle development in mdx mutant mice. **Muscle Nerve**, v. 7, n. 9, p. 700-4, 1984 Nov-Dec 1984. ISSN 0148-639X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6543918> >.

DANKO, I.; CHAPMAN, V.; WOLFF, J. A. The frequency of revertants in mdx mouse genetic models for Duchenne muscular dystrophy. **Pediatr Res**, v. 32, n. 1, p. 128-31, Jul 1992. ISSN 0031-3998. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1635838> >.

DATTA, B. et al. Increase in p202 expression during skeletal muscle differentiation: inhibition of MyoD protein expression and activity by p202. **Mol Cell Biol**, v. 18, n. 2, p. 1074-83, Feb 1998. ISSN 0270-7306. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9448005> >.

DE PAEPE, B. et al. Upregulation of chemokines and their receptors in Duchenne muscular dystrophy: potential for attenuation of myofiber necrosis. **Muscle Nerve**, v. 46, n. 6, p. 917-25, Dec 2012. ISSN 1097-4598. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23225384> >.

DEAN, R. A. et al. Macrophage-specific metalloelastase (MMP-12) truncates and inactivates ELR+ CXC chemokines and generates CCL2, -7, -8, and -13 antagonists: potential role of the macrophage in terminating polymorphonuclear leukocyte influx. **Blood**, v. 112, n. 8, p. 3455-64, Oct 2008. ISSN 1528-0020. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18660381> >.

DECARY, S. et al. Shorter telomeres in dystrophic muscle consistent with extensive regeneration in young children. **Neuromuscul Disord**, v. 10, n. 2, p. 113-20, Feb 2000. ISSN 0960-8966. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10714586> >.

EISENBERG, I. et al. Distinctive patterns of microRNA expression in primary muscular disorders. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 104, n. 43, p. 17016-21, Oct 2007. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17942673> >.

EMERY, A. E. The muscular dystrophies. **Lancet**, v. 359, n. 9307, p. 687-95, Feb 2002. ISSN 0140-6736. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11879882> >.

EMSLIE-SMITH, A. M.; ARAHATA, K.; ENGEL, A. G. Major histocompatibility complex class I antigen expression, immunolocalization of interferon subtypes, and T cell-mediated cytotoxicity in myopathies. **Hum Pathol**, v. 20, n. 3, p. 224-31, Mar 1989. ISSN 0046-8177. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2470663> >.

ERVASTI, J. M.; CAMPBELL, K. P. A role for the dystrophin-glycoprotein complex as a transmembrane linker between laminin and actin. **J Cell Biol**, v. 122, n. 4, p. 809-23, Aug 1993. ISSN 0021-9525. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8349731> >.

ERVASTI, J. M. et al. Deficiency of a glycoprotein component of the dystrophin complex in dystrophic muscle. **Nature**, v. 345, n. 6273, p. 315-9, May 1990. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2188135> >.

FARINI, A. et al. T and B lymphocyte depletion has a marked effect on the fibrosis of dystrophic skeletal muscles in the scid/mdx mouse. **J Pathol**, v. 213, n. 2, p. 229-38, Oct 2007. ISSN 0022-3417. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17668421> >.

_____. Absence of T and B lymphocytes modulates dystrophic features in dysferlin deficient animal model. **Exp Cell Res**, v. 318, n. 10, p. 1160-74, Jun 2012. ISSN 1090-2422. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22465227> >.

FEGHALI, R.; LEINWAND, L. A. Molecular genetic characterization of a developmentally regulated human perinatal myosin heavy chain. **J Cell Biol**, v. 108, n. 5, p. 1791-7, May 1989. ISSN 0021-9525. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2715179> >.

FLANIGAN, K. M. The muscular dystrophies. **Semin Neurol**, v. 32, n. 3, p. 255-63, Jul 2012. ISSN 1098-9021. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23117950> >.

FLANIGAN, K. M. et al. Anti-dystrophin T cell responses in Duchenne muscular dystrophy: prevalence and a glucocorticoid treatment effect. **Hum Gene Ther**, v. 24, n. 9, p. 797-806, Sep 2013. ISSN 1557-7422. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24010700> >.

FOWLKES, J. L. et al. Regulation of insulin-like growth factor (IGF)-I action by matrix metalloproteinase-3 involves selective disruption of IGF-I/IGF-binding protein-3 complexes. **Endocrinology**, v. 145, n. 2, p. 620-6, Feb 2004. ISSN 0013-7227. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14605000> >.

FUROCHI, H. et al. Overexpression of osteoactivin protects skeletal muscle from severe degeneration caused by long-term denervation in mice. **J Med Invest**, v. 54, n. 3-4, p. 248-54, Aug 2007. ISSN 1343-1420. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17878673> >.

GEE, S. H. et al. Laminin-binding protein 120 from brain is closely related to the dystrophin-associated glycoprotein, dystroglycan, and binds with high affinity to the major heparin binding domain of laminin. **J Biol Chem**, v. 268, n. 20, p. 14972-80, Jul 1993. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8325873> >.

GOETSCH, S. C. et al. Transcriptional profiling and regulation of the extracellular matrix during muscle regeneration. **Physiol Genomics**, v. 14, n. 3, p. 261-71, Aug 2003. ISSN 1531-2267. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12799472> >.

GOSSELIN, L. E. et al. Localization and early time course of TGF-beta 1 mRNA expression in dystrophic muscle. **Muscle Nerve**, v. 30, n. 5, p. 645-53, Nov 2004. ISSN 0148-639X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15389721> >.

GREWAL, P. K.; HEWITT, J. E. Mutation of Large, which encodes a putative glycosyltransferase, in an animal model of muscular dystrophy. **Biochim Biophys Acta**, v. 1573, n. 3, p. 216-24, Dec 2002. ISSN 0006-3002. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12417403> >.

GREWAL, P. K. et al. Mutant glycosyltransferase and altered glycosylation of alpha-dystroglycan in the myodystrophy mouse. **Nat Genet**, v. 28, n. 2, p. 151-4, Jun 2001. ISSN 1061-4036. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11381262> >.

GUMERSON, J. D.; MICHELE, D. E. The dystrophin-glycoprotein complex in the prevention of muscle damage. **J Biomed Biotechnol**, v. 2011, p. 210797, 2011. ISSN 1110-7251. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22007139> >.

HAN, R. et al. Genetic ablation of complement C3 attenuates muscle pathology in dysferlin-deficient mice. **J Clin Invest**, v. 120, n. 12, p. 4366-74, Dec 2010. ISSN 1558-8238. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21060153> >.

HASLETT, J. N. et al. The influence of muscle type and dystrophin deficiency on murine expression profiles. **Mamm Genome**, v. 16, n. 10, p. 739-48, Oct 2005. ISSN 0938-8990. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16261416> >.

HASLETT, J. N.; KUNKEL, L. M. Microarray analysis of normal and dystrophic skeletal muscle. **Int J Dev Neurosci**, v. 20, n. 3-5, p. 359-65, 2002 Jun-Aug 2002. ISSN 0736-5748. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12175874> >.

HASLETT, J. N. et al. Gene expression comparison of biopsies from Duchenne muscular dystrophy (DMD) and normal skeletal muscle. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 99, n. 23, p. 15000-5, Nov 2002. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12415109> >.

_____. Gene expression profiling of Duchenne muscular dystrophy skeletal muscle. **Neurogenetics**, v. 4, n. 4, p. 163-71, Aug 2003. ISSN 1364-6745. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12698323> >.

HESLOP, L.; MORGAN, J. E.; PARTRIDGE, T. A. Evidence for a myogenic stem cell that is exhausted in dystrophic muscle. **J Cell Sci**, v. 113 (Pt 12), p. 2299-308, Jun 2000. ISSN 0021-9533. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10825301> >.

HEWITT, J. E. LARGE enzyme activity deciphered: a new therapeutic target for muscular dystrophies. **Genome Med**, v. 4, n. 3, p. 23, Mar 2012. ISSN 1756-994X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22458537> >.

HOFFMAN, E. P.; BROWN, R. H.; KUNKEL, L. M. Dystrophin: the protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus. **Cell**, v. 51, n. 6, p. 919-28, Dec 1987. ISSN 0092-8674. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3319190> >.

HOFFMAN, E. P. et al. Somatic reversion/suppression of the mouse mdx phenotype in vivo. **J Neurol Sci**, v. 99, n. 1, p. 9-25, Oct 1990. ISSN 0022-510X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2250176> >.

HOLZFEIND, P. J. et al. Skeletal, cardiac and tongue muscle pathology, defective retinal transmission, and neuronal migration defects in the Large(myd) mouse defines a natural model for glycosylation-deficient muscle - eye - brain disorders. **Hum Mol Genet**, v. 11, n. 21, p. 2673-87, Oct 2002. ISSN 0964-6906. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12354792> >.

IBRAGHIMOV-BESKROVNAYA, O. et al. Primary structure of dystrophin-associated glycoproteins linking dystrophin to the extracellular matrix. **Nature**, v. 355, n. 6362, p. 696-702, Feb 1992. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1741056> >.

INAMORI, K. et al. Dystroglycan function requires xylosyl- and glucuronyltransferase activities of LARGE. **Science**, v. 335, n. 6064, p. 93-6, Jan 2012. ISSN 1095-9203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22223806> >.

JOHNSON, E. K. et al. Identification of new dystroglycan complexes in skeletal muscle. **PLoS One**, v. 8, n. 8, p. e73224, 2013. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23951345> >.

KARSCH-MIZRACHI, I. et al. Expression and DNA sequence analysis of a human embryonic skeletal muscle myosin heavy chain gene. **Nucleic Acids Res**, v. 17, n. 15, p. 6167-79, Aug 1989. ISSN 0305-1048. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2771643> >.

KOENIG, M.; MONACO, A. P.; KUNKEL, L. M. The complete sequence of dystrophin predicts a rod-shaped cytoskeletal protein. **Cell**, v. 53, n. 2, p. 219-28, Apr 1988. ISSN 0092-8674. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3282674> >.

KOJIC, S.; RADOJKOVIC, D.; FAULKNER, G. Muscle ankyrin repeat proteins: their role in striated muscle function in health and disease. **Crit Rev Clin Lab Sci**, v. 48, n. 5-6, p. 269-94, 2011 Sep-Dec 2011. ISSN 1549-781X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22185618> >.

KOTELNIKOVA, E. et al. Novel approach to meta-analysis of microarray datasets reveals muscle remodeling-related drug targets and biomarkers in Duchenne muscular dystrophy. **PLoS Comput Biol**, v. 8, n. 2, p. e1002365, Feb 2012. ISSN 1553-7358. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22319435> >.

KOTTLORS, M.; KIRSCHNER, J. Elevated satellite cell number in Duchenne muscular dystrophy. **Cell Tissue Res**, v. 340, n. 3, p. 541-8, Jun 2010. ISSN 1432-0878. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20467789> >.

LANE, P. W.; BEAMER, T. C.; MYERS, D. D. Myodystrophy, a new myopathy on chromosome 8 of the mouse. **J Hered**, v. 67, n. 3, p. 135-8, 1976 May-Jun 1976. ISSN 0022-1503. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/939913> >.

LAURE, L. et al. A new pathway encompassing calpain 3 and its newly identified substrate cardiac ankyrin repeat protein is involved in the regulation of the nuclear factor- κ B pathway in skeletal muscle. **FEBS J**, v. 277, n. 20, p. 4322-37, Oct 2010. ISSN 1742-4658. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20860623> >.

_____. Cardiac ankyrin repeat protein is a marker of skeletal muscle pathological remodelling. **FEBS J**, v. 276, n. 3, p. 669-84, Feb 2009. ISSN 1742-4658. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19143834> >.

LEE, S. J. Regulation of muscle mass by myostatin. **Annu Rev Cell Dev Biol**, v. 20, p. 61-86, 2004. ISSN 1081-0706. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15473835> >.

LEWIS, M. P. et al. Gelatinase-B (matrix metalloproteinase-9; MMP-9) secretion is involved in the migratory phase of human and murine muscle cell cultures. **J Muscle Res Cell Motil**, v. 21, n. 3, p. 223-33, Apr 2000. ISSN 0142-4319. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10952170> >.

LIU, C. et al. Overexpression of legumain in tumors is significant for invasion/metastasis and a candidate enzymatic target for prodrug therapy. **Cancer Res**, v. 63, n. 11, p. 2957-64, Jun 2003. ISSN 0008-5472. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12782603> >.

_____. MyoD-dependent induction during myoblast differentiation of p204, a protein also inducible by interferon. **Mol Cell Biol**, v. 20, n. 18, p. 7024-36, Sep 2000. ISSN 0270-7306. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10958697> >.

LIU, C. J. et al. The MyoD-inducible p204 protein overcomes the inhibition of myoblast differentiation by Id proteins. **Mol Cell Biol**, v. 22, n. 9, p. 2893-905, May 2002. ISSN 0270-7306. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11940648> >.

LONGMAN, C. et al. Mutations in the human LARGE gene cause MDC1D, a novel form of congenital muscular dystrophy with severe mental retardation and abnormal glycosylation of

alpha-dystroglycan. **Hum Mol Genet**, v. 12, n. 21, p. 2853-61, Nov 2003. ISSN 0964-6906. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12966029> >.

LUKJANENKO, L. et al. Genomic profiling reveals that transient adipogenic activation is a hallmark of mouse models of skeletal muscle regeneration. **PLoS One**, v. 8, n. 8, p. e71084, 2013. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23976982> >.

MADALA, S. K. et al. Matrix metalloproteinase 12-deficiency augments extracellular matrix degrading metalloproteinases and attenuates IL-13-dependent fibrosis. **J Immunol**, v. 184, n. 7, p. 3955-63, Apr 2010. ISSN 1550-6606. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20181883> >.

MALLOUK, N.; JACQUEMOND, V.; ALLARD, B. Elevated subsarcolemmal Ca²⁺ in mdx mouse skeletal muscle fibers detected with Ca²⁺-activated K⁺ channels. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 97, n. 9, p. 4950-5, Apr 2000. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10781103> >.

MAROTTA, M. et al. Muscle genome-wide expression profiling during disease evolution in mdx mice. **Physiol Genomics**, v. 37, n. 2, p. 119-32, Apr 2009. ISSN 1531-2267. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19223608> >.

MARTINS, P. C. et al. Dmdmdx/Largemyd: a new mouse model of neuromuscular diseases useful for studying physiopathological mechanisms and testing therapies. **Dis Model Mech**, v. 6, n. 5, p. 1167-74, 2013 Sep-Oct 2013. ISSN 1754-8411. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23798567> >.

MATSUDA, R.; NISHIKAWA, A.; TANAKA, H. Visualization of dystrophic muscle fibers in mdx mouse by vital staining with Evans blue: evidence of apoptosis in dystrophin-deficient muscle. **J Biochem**, v. 118, n. 5, p. 959-64, Nov 1995. ISSN 0021-924X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8749313> >.

MCDOUALL, R. M.; DUNN, M. J.; DUBOWITZ, V. Expression of class I and class II MHC antigens in neuromuscular diseases. **J Neurol Sci**, v. 89, n. 2-3, p. 213-26, Feb 1989. ISSN 0022-510X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2926449> >.

MCQUIBBAN, G. A. et al. Matrix metalloproteinase processing of monocyte chemoattractant proteins generates CC chemokine receptor antagonists with anti-inflammatory properties in vivo. **Blood**, v. 100, n. 4, p. 1160-7, Aug 2002. ISSN 0006-4971. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12149192> >.

MERCURI, E.; MUNTONI, F. Muscular dystrophies. **Lancet**, v. 381, n. 9869, p. 845-60, Mar 2013. ISSN 1474-547X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23465426> >.

MOORE, C. J.; HEWITT, J. E. Dystroglycan glycosylation and muscular dystrophy. **Glycoconj J**, v. 26, n. 3, p. 349-57, Apr 2009. ISSN 1573-4986. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18773291> >.

MOORE, C. J.; WINDER, S. J. The inside and out of dystroglycan post-translational modification. **Neuromuscul Disord**, v. 22, n. 11, p. 959-65, Nov 2012. ISSN 1873-2364. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22770978> >.

MORGAN, J. et al. MMP-9 overexpression improves myogenic cell migration and engraftment. **Muscle Nerve**, v. 42, n. 4, p. 584-95, Oct 2010. ISSN 1097-4598. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20734311> >.

MUNTONI, F. et al. Defective glycosylation in muscular dystrophy. **Lancet**, v. 360, n. 9343, p. 1419-21, Nov 2002. ISSN 0140-6736. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12424008> >.

NAKADA, C. et al. Cardiac-restricted ankyrin-repeated protein is differentially induced in duchenne and congenital muscular dystrophy. **Lab Invest**, v. 83, n. 5, p. 711-9, May 2003. ISSN 0023-6837. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12746480> >.

NATHAN, C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. **Nat Rev Immunol**, v. 6, n. 3, p. 173-82, Mar 2006. ISSN 1474-1733. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16498448> >.

NOGUCHI, S. et al. cDNA microarray analysis of individual Duchenne muscular dystrophy patients. **Hum Mol Genet**, v. 12, n. 6, p. 595-600, Mar 2003. ISSN 0964-6906. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12620965> >.

OGAWA, T. et al. Osteoactivin upregulates expression of MMP-3 and MMP-9 in fibroblasts infiltrated into denervated skeletal muscle in mice. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 289, n. 3, p. C697-707, Sep 2005. ISSN 0363-6143. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16100390> >.

ORRENIUS, S.; ZHIVOTOVSKY, B.; NICOTERA, P. Regulation of cell death: the calcium-apoptosis link. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 4, n. 7, p. 552-65, Jul 2003. ISSN 1471-0072. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12838338> >.

PARKER, M. H.; SEALE, P.; RUDNICKI, M. A. Looking back to the embryo: defining transcriptional networks in adult myogenesis. **Nat Rev Genet**, v. 4, n. 7, p. 497-507, Jul 2003. ISSN 1471-0056. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12838342> >.

PASTORET, C.; SEBILLE, A. mdx mice show progressive weakness and muscle deterioration with age. **J Neurol Sci**, v. 129, n. 2, p. 97-105, Apr 1995. ISSN 0022-510X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7608742> >.

PEGORARO, E. et al. SPP1 genotype is a determinant of disease severity in Duchenne muscular dystrophy. **Neurology**, v. 76, n. 3, p. 219-26, Jan 2011. ISSN 1526-632X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21178099> >.

PETROF, B. J. et al. Dystrophin protects the sarcolemma from stresses developed during muscle contraction. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 90, n. 8, p. 3710-4, Apr 1993. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8475120> >.

PIGOZZO, S. R. et al. Revertant Fibers in the mdx Murine Model of Duchenne Muscular Dystrophy: An Age- and Muscle-Related Reappraisal. **PLoS One**, v. 8, n. 8, p. e72147, 2013. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24015212> >.

PORTER, J. D. et al. Persistent over-expression of specific CC class chemokines correlates with macrophage and T-cell recruitment in mdx skeletal muscle. **Neuromuscul Disord**, v. 13, n. 3, p. 223-35, Mar 2003. ISSN 0960-8966. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12609504> >.

_____. A chronic inflammatory response dominates the skeletal muscle molecular signature in dystrophin-deficient mdx mice. **Hum Mol Genet**, v. 11, n. 3, p. 263-72, Feb 2002. ISSN 0964-6906. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11823445> >.

_____. Constitutive properties, not molecular adaptations, mediate extraocular muscle sparing in dystrophic mdx mice. **FASEB J**, v. 17, n. 8, p. 893-5, May 2003. ISSN 1530-6860. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12670877> >.

_____. Temporal gene expression profiling of dystrophin-deficient (mdx) mouse diaphragm identifies conserved and muscle group-specific mechanisms in the pathogenesis of muscular

dystrophy. **Hum Mol Genet**, v. 13, n. 3, p. 257-69, Feb 2004. ISSN 0964-6906. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14681298> >.

_____. Dissection of temporal gene expression signatures of affected and spared muscle groups in dystrophin-deficient (mdx) mice. **Hum Mol Genet**, v. 12, n. 15, p. 1813-21, Aug 2003. ISSN 0964-6906. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12874102> >.

RAHIMOV, F.; KUNKEL, L. M. The cell biology of disease: cellular and molecular mechanisms underlying muscular dystrophy. **J Cell Biol**, v. 201, n. 4, p. 499-510, May 2013. ISSN 1540-8140. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23671309> >.

RANDO, T. A. The dystrophin-glycoprotein complex, cellular signaling, and the regulation of cell survival in the muscular dystrophies. **Muscle Nerve**, v. 24, n. 12, p. 1575-94, Dec 2001. ISSN 0148-639X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11745966> >.

REED, P.; BLOCH, R. J. Postnatal changes in sarcolemmal organization in the mdx mouse. **Neuromuscul Disord**, v. 15, n. 8, p. 552-61, Aug 2005. ISSN 0960-8966. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16051092> >.

REED, P. W. et al. The sarcolemma in the Large(myd) mouse. **Muscle Nerve**, v. 30, n. 5, p. 585-95, Nov 2004. ISSN 0148-639X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15389724> >.

ROSS, J. et al. Defects in glycosylation impair satellite stem cell function and niche composition in the muscles of the dystrophic Large(myd) mouse. **Stem Cells**, v. 30, n. 10, p. 2330-41, Oct 2012. ISSN 1549-4918. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22887880> >.

ROUGER, K. et al. Global/temporal gene expression in diaphragm and hindlimb muscles of dystrophin-deficient (mdx) mice. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 283, n. 3, p. C773-84, Sep 2002. ISSN 0363-6143. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12176734> >.

SADOULET-PUCCIO, H. M.; RAJALA, M.; KUNKEL, L. M. Dystrobrevin and dystrophin: an interaction through coiled-coil motifs. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 94, n. 23, p. 12413-8, Nov 1997. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9356463> >.

SHIPLEY, J. M. et al. Metalloelastase is required for macrophage-mediated proteolysis and matrix invasion in mice. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 93, n. 9, p. 3942-6, Apr 1996. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8632994> >.

SICINSKI, P. et al. The molecular basis of muscular dystrophy in the mdx mouse: a point mutation. **Science**, v. 244, n. 4912, p. 1578-80, Jun 1989. ISSN 0036-8075. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2662404> >.

SINGH, M. et al. Functional roles of osteoactivin in normal and disease processes. **Crit Rev Eukaryot Gene Expr**, v. 20, n. 4, p. 341-57, 2010. ISSN 1045-4403. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21395506> >.

SPENCER, M. J. et al. Helper (CD4(+)) and cytotoxic (CD8(+)) T cells promote the pathology of dystrophin-deficient muscle. **Clin Immunol**, v. 98, n. 2, p. 235-43, Feb 2001. ISSN 1521-6616. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11161980> >.

STEDMAN, H. H. et al. The mdx mouse diaphragm reproduces the degenerative changes of Duchenne muscular dystrophy. **Nature**, v. 352, n. 6335, p. 536-9, Aug 1991. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1865908> >.

STIBER, J. A. et al. Homer modulates NFAT-dependent signaling during muscle differentiation. **Dev Biol**, v. 287, n. 2, p. 213-24, Nov 2005. ISSN 0012-1606. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16226241> >.

_____. Mice lacking Homer 1 exhibit a skeletal myopathy characterized by abnormal transient receptor potential channel activity. **Mol Cell Biol**, v. 28, n. 8, p. 2637-47, Apr 2008. ISSN 1098-5549. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18268005> >.

STRACKE, J. O. et al. Biochemical characterization of the catalytic domain of human matrix metalloproteinase 19. Evidence for a role as a potent basement membrane degrading enzyme. **J Biol Chem**, v. 275, n. 20, p. 14809-16, May 2000. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10809722> >.

SUN, G. et al. Elevated plasma levels of tissue inhibitors of metalloproteinase-1 and their overexpression in muscle in human and mouse muscular dystrophy. **J Neurol Sci**, v. 297, n. 1-2, p. 19-28, Oct 2010. ISSN 1878-5883. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20655547> >.

SUZUKI, A. et al. Glycoprotein-binding site of dystrophin is confined to the cysteine-rich domain and the first half of the carboxy-terminal domain. **FEBS Lett**, v. 308, n. 2, p. 154-60, Aug 1992. ISSN 0014-5793. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1499724> >.

TALLANT, C.; MARRERO, A.; GOMIS-RÜTH, F. X. Matrix metalloproteinases: fold and function of their catalytic domains. **Biochim Biophys Acta**, v. 1803, n. 1, p. 20-8, Jan 2010. ISSN 0006-3002. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19374923> >.

TIDBALL, J. G.; VILLALTA, S. A. Regulatory interactions between muscle and the immune system during muscle regeneration. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 298, n. 5, p. R1173-87, May 2010. ISSN 1522-1490. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20219869> >.

TIDBALL, J. G.; WEHLING-HENRICKS, M. The role of free radicals in the pathophysiology of muscular dystrophy. **J Appl Physiol (1985)**, v. 102, n. 4, p. 1677-86, Apr 2007. ISSN 8750-7587. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17095633> >.

TKATCHENKO, A. V. et al. Large-scale analysis of differential gene expression in the hindlimb muscles and diaphragm of mdx mouse. **Biochim Biophys Acta**, v. 1500, n. 1, p. 17-30, Jan 2000. ISSN 0006-3002. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10564714> >.

_____. Identification of altered gene expression in skeletal muscles from Duchenne muscular dystrophy patients. **Neuromuscul Disord**, v. 11, n. 3, p. 269-77, Apr 2001. ISSN 0960-8966. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11297942> >.

TODA, T.; KOBAYASHI, K. Fukuyama-type congenital muscular dystrophy: the first human disease to be caused by an ancient retrotransposal integration. **J Mol Med (Berl)**, v. 77, n. 12, p. 816-23, Dec 1999. ISSN 0946-2716. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10682317> >.

TONAMI, K. et al. Calpain-6 deficiency promotes skeletal muscle development and regeneration. **PLoS Genet**, v. 9, n. 8, p. e1003668, 2013. ISSN 1553-7404. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23935533> >.

TSENG, B. S. et al. Regenerated mdx mouse skeletal muscle shows differential mRNA expression. **J Appl Physiol (1985)**, v. 93, n. 2, p. 537-45, Aug 2002. ISSN 8750-7587. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12133862> >.

TURK, R. et al. Muscle regeneration in dystrophin-deficient mdx mice studied by gene expression profiling. **BMC Genomics**, v. 6, p. 98, 2005. ISSN 1471-2164. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16011810> >.

_____. Common pathological mechanisms in mouse models for muscular dystrophies. **FASEB J**, v. 20, n. 1, p. 127-9, Jan 2006. ISSN 1530-6860. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16306063> >.

TURNER, P. R. et al. Increased protein degradation results from elevated free calcium levels found in muscle from mdx mice. **Nature**, v. 335, n. 6192, p. 735-8, Oct 1988. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3173492> >.

TUSHER, V. G.; TIBSHIRANI, R.; CHU, G. Significance analysis of microarrays applied to the ionizing radiation response. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 98, n. 9, p. 5116-21, Apr 2001. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11309499> >.

UAESOONTRACHOON, K. et al. Osteopontin deficiency delays inflammatory infiltration and the onset of muscle regeneration in a mouse model of muscle injury. **Dis Model Mech**, v. 6, n. 1, p. 197-205, Jan 2013. ISSN 1754-8411. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22917925> >.

_____. Osteopontin and skeletal muscle myoblasts: association with muscle regeneration and regulation of myoblast function in vitro. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 40, n. 10, p. 2303-14, 2008. ISSN 1357-2725. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18490187> >.

VAINZOF, M.; ZATZ, M. Protein defects in neuromuscular diseases. **Braz J Med Biol Res**, v. 36, n. 5, p. 543-55, May 2003. ISSN 0100-879X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12715073> >.

VAN REEUWIJK, J. et al. POMT2 mutations cause alpha-dystroglycan hypoglycosylation and Walker-Warburg syndrome. **J Med Genet**, v. 42, n. 12, p. 907-12, Dec 2005. ISSN 1468-6244. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15894594> >.

VILLALTA, S. A. et al. Shifts in macrophage phenotypes and macrophage competition for arginine metabolism affect the severity of muscle pathology in muscular dystrophy. **Hum Mol Genet**, v. 18, n. 3, p. 482-96, Feb 2009. ISSN 1460-2083. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18996917> >.

VON MOERS, A. et al. Increased mRNA expression of tissue inhibitors of metalloproteinase-1 and -2 in Duchenne muscular dystrophy. **Acta Neuropathol**, v. 109, n. 3, p. 285-93, Mar 2005. ISSN 0001-6322. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15616792> >.

WALLACE, G. Q.; MCNALLY, E. M. Mechanisms of muscle degeneration, regeneration, and repair in the muscular dystrophies. **Annu Rev Physiol**, v. 71, p. 37-57, 2009. ISSN 1545-1585. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18808326> >.

WANG, L. et al. S100A4 promotes invasion and angiogenesis in breast cancer MDA-MB-231 cells by upregulating matrix metalloproteinase-13. **Acta Biochim Pol**, v. 59, n. 4, p. 593-8, 2012. ISSN 1734-154X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23162804> >.

WANG, Y. X.; RUDNICKI, M. A. Satellite cells, the engines of muscle repair. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 13, n. 2, p. 127-33, Feb 2012. ISSN 1471-0080. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22186952> >.

WARREN, G. L. et al. Chemokine receptor CCR2 involvement in skeletal muscle regeneration. **FASEB J**, v. 19, n. 3, p. 413-5, Mar 2005. ISSN 1530-6860. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15601671> >.

WAY, M. et al. Expression of the N-terminal domain of dystrophin in E. coli and demonstration of binding to F-actin. **FEBS Lett**, v. 301, n. 3, p. 243-5, Apr 1992. ISSN 0014-5793. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1577159> >.

WEHLING, M.; SPENCER, M. J.; TIDBALL, J. G. A nitric oxide synthase transgene ameliorates muscular dystrophy in mdx mice. **J Cell Biol**, v. 155, n. 1, p. 123-31, Oct 2001. ISSN 0021-9525. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11581289> >.

WU, H.; XU, G.; LI, Y. P. Atp6v0d2 is an essential component of the osteoclast-specific proton pump that mediates extracellular acidification in bone resorption. **J Bone Miner Res**, v. 24, n. 5, p. 871-85, May 2009. ISSN 1523-4681. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19113919> >.

WU, Y.; PRYSTOWSKY, M. B.; ORLOFSKY, A. Sustained high-level production of murine chemokine C10 during chronic inflammation. **Cytokine**, v. 11, n. 7, p. 523-30, Jul 1999. ISSN 1043-4666. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10419654> >.

YAHIAOUI, L. et al. CC family chemokines directly regulate myoblast responses to skeletal muscle injury. **J Physiol**, v. 586, n. 16, p. 3991-4004, Aug 2008. ISSN 1469-7793. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18566004> >.

YOSHIDA, A. et al. Muscular dystrophy and neuronal migration disorder caused by mutations in a glycosyltransferase, POMGnT1. **Dev Cell**, v. 1, n. 5, p. 717-24, Nov 2001. ISSN 1534-5807. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11709191> >.

YOSHIDA, M.; OZAWA, E. Glycoprotein complex anchoring dystrophin to sarcolemma. **J Biochem**, v. 108, n. 5, p. 748-52, Nov 1990. ISSN 0021-924X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2081733> >.

YOSHIDA, M. et al. Dissociation of the complex of dystrophin and its associated proteins into several unique groups by n-octyl beta-D-glucoside. **Eur J Biochem**, v. 222, n. 3, p. 1055-61, Jun 1994. ISSN 0014-2956. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8026484> >.

YOSHIDA, T. et al. Angiotensin II inhibits satellite cell proliferation and prevents skeletal muscle regeneration. **J Biol Chem**, v. 288, n. 33, p. 23823-32, Aug 2013. ISSN 1083-351X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23831688> >.

ZHANG, G. et al. Knockdown of S100A4 decreases tumorigenesis and metastasis in osteosarcoma cells by repression of matrix metalloproteinase-9. **Asian Pac J Cancer Prev**, v. 12, n. 8, p. 2075-80, 2011. ISSN 1513-7368. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22292654> >.

Anexos

A. Listas de genes diferencialmente expresos

<i>Dmd^{mdx}</i> vs <i>C57BL</i> 21 dias			
Fold Change	Symbol	Entrez Gene Name	Location
-1,719	PLAC9	placenta-specific 9	Other
-1,694	PLAC9	placenta-specific 9	Other
-1,694	PLAC9	placenta-specific 9	Other
-1,672	LGI1	leucine-rich, glioma inactivated 1	Plasma Membrane
-1,619	PTTG1	pituitary tumor-transforming 1	Nucleus
-1,564	TCEA3	transcription elongation factor A (SII), 3	Nucleus
-1,385	4933409K07Rik	RIKEN cDNA 4933409K07 gene	Other
-1,370	4933409K07Rik	RIKEN cDNA 4933409K07 gene	Other
-1,338	METTL21C	methyltransferase like 21C	Other
-1,300	4933409K07Rik	RIKEN cDNA 4933409K07 gene	Other
-1,278	Gm3893	predicted gene 3893	Other
-1,278	Gm3893	predicted gene 3893	Other
-1,271	LRRCS2	leucine rich repeat containing 52	Other
-1,212	4933409K07Rik	RIKEN cDNA 4933409K07 gene	Other
-1,195	Gm3893	predicted gene 3893	Other
-1,139	KIAA0408	KIAA0408	Other
-1,093	4933409K07Rik	RIKEN cDNA 4933409K07 gene	Other
-0,998	LIMS2	LIM and senescent cell antigen-like domains 2	Cytoplasm
0,676	Ahnak2	AHNK nucleoprotein 2	Other
0,677	ATPIF1	ATPase inhibitory factor 1	Cytoplasm
0,702	ENO1	enolase 1, (alpha)	Cytoplasm
0,703	NAGK	N-acetylglucosamine kinase	Cytoplasm
0,704	CMTM3	CKLF-like MARVEL transmembrane domain containing 3	Extracellular Space
0,713	NES	nestin	Cytoplasm
0,719	TUBA1B	tubulin, alpha 1b	Cytoplasm
0,724	PSAP	prosaposin	Extracellular Space
0,726	PLP2	proteolipid protein 2 (colonic epithelium-enriched)	Cytoplasm
0,727	STOM	stomatin	Plasma Membrane
0,73	SMPDL3B	sphingomyelin phosphodiesterase, acid-like 3B	Extracellular Space
0,743	EHD4	EH-domain containing 4	Plasma Membrane
0,744	PHKA2	phosphorylase kinase, alpha 2 (liver)	Cytoplasm
0,745	CLN8	ceroid-lipofuscinosis, neuronal 8 (epilepsy, progressive with mental retardation)	Cytoplasm
0,75	Cbr2	carbonyl reductase 2	Cytoplasm
0,758	REPS2	RALBP1 associated Eps domain containing 2	Cytoplasm
0,767	CCDC23	coiled-coil domain containing 23	Other
0,771	TPD52	tumor protein D52	Cytoplasm
0,773	CD63	CD63 molecule	Plasma Membrane
0,779	LAYN	layilin	Plasma Membrane
0,779	TUBA1B	tubulin, alpha 1b	Cytoplasm
0,782	LRP1	low density lipoprotein receptor-related protein 1	Plasma Membrane
0,796	GLB1	galactosidase, beta 1	Cytoplasm
0,798	UAP1L1	UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase 1-like 1	Other
0,801	CAPN6	calpain 6	Cytoplasm
0,804	SPAG5	sperm associated antigen 5	Nucleus
0,808	ECM1	extracellular matrix protein 1	Extracellular Space
0,816	GLIS3	GLIS family zinc finger 3	Nucleus
0,819	VWA5A	von Willebrand factor A domain containing 5A	Nucleus
0,82	SCPEP1	serine carboxypeptidase 1	Cytoplasm
0,826	DSE	dermatan sulfate epimerase	Cytoplasm
0,828	Fmn1	formin 1	Other
0,831	ADAP2	ArfGAP with dual PH domains 2	Cytoplasm
0,831	CASP3	caspase 3, apoptosis-related cysteine peptidase	Cytoplasm
0,836	SGOL1	shugoshin-like 1 (S, pombe)	Nucleus
0,838	OIP5	Opa interacting protein 5	Nucleus
0,84	GAS7	growth arrest-specific 7	Cytoplasm
0,843	NOX4	NADPH oxidase 4	Cytoplasm
0,843	PYGL	phosphorylase, glycogen, liver	Cytoplasm
0,844	CDH2	cadherin 2, type 1, N-cadherin (neuronal)	Plasma Membrane
0,845	FTL	ferritin, light polypeptide	Cytoplasm
0,845	RASGRP4	RAS guanyl releasing protein 4	Cytoplasm
0,846	Retnla	resistin like alpha	Extracellular Space
0,852	ALDH9A1	aldehyde dehydrogenase 9 family, member A1	Cytoplasm

0,852	GLTP	glycolipid transfer protein	Cytoplasm
0,853	PPAP2C	phosphatidic acid phosphatase type 2C	Plasma Membrane
0,861	P2RX7	purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 7	Plasma Membrane
0,866	MAN2B2	mannosidase, alpha, class 2B, member 2	Cytoplasm
0,872	ARL14EP	ADP-ribosylation factor-like 14 effector protein	Other
0,873	POLE2	polymerase (DNA directed), epsilon 2, accessory subunit	Nucleus
0,875	TICAM2	toll-like receptor adaptor molecule 2	Plasma Membrane
0,876	PPT1	palmitoyl-protein thioesterase 1	Cytoplasm
0,877	LRP12	low density lipoprotein receptor-related protein 12	Plasma Membrane
0,878	IL1RL2	interleukin 1 receptor-like 2	Plasma Membrane
0,88	PLTP	phospholipid transfer protein	Extracellular Space
0,88	SNX5	sorting nexin 5	Cytoplasm
0,881	GPR34	G protein-coupled receptor 34	Plasma Membrane
0,891	CENPK	centromere protein K	Nucleus
0,891	ID2	inhibitor of DNA binding 2, dominant negative helix-loop-helix protein	Nucleus
0,893	ZNF761	zinc finger protein 761	Nucleus
0,894	Aph1c	anterior pharynx defective 1c homolog (C, elegans)	Other
0,894	CLCN5	chloride channel, voltage-sensitive 5	Plasma Membrane
0,898	SERPINB8	serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 8	Cytoplasm
0,9	ABHD12	abhydrolase domain containing 12	Other
0,902	HN1	hematological and neurological expressed 1	Nucleus
0,904	ESYT1	extended synaptotagmin-like protein 1	Other
0,904	MERTK	c-mer proto-oncogene tyrosine kinase	Plasma Membrane
0,906	IQSEC3	IQ motif and Sec7 domain 3	Cytoplasm
0,907	FGL2	fibrinogen-like 2	Extracellular Space
0,91	C11orf82	chromosome 11 open reading frame 82	Cytoplasm
0,91	IQGAP1	IQ motif containing GTPase activating protein 1	Cytoplasm
0,912	GNPDA1	glucosamine-6-phosphate deaminase 1	Cytoplasm
0,916	INCENP	inner centromere protein antigens 135/155kDa	Nucleus
0,918	RNF149	ring finger protein 149	Other
0,92	MPP1	membrane protein, palmitoylated 1, 55kDa	Plasma Membrane
0,92	SDCBP	syndecan binding protein (syntenin)	Plasma Membrane
0,921	HIST1H1A	histone cluster 1, H1a	Nucleus
0,921	HSD17B12	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 12	Cytoplasm
0,922	PRKAR2B	protein kinase, cAMP-dependent, regulatory, type II, beta	Cytoplasm
0,924	ADAM12	ADAM metallopeptidase domain 12	Plasma Membrane
0,926	IL13RA1	interleukin 13 receptor, alpha 1	Plasma Membrane
0,926	MYBL1	v-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog-like 1	Nucleus
0,926	PCNA	proliferating cell nuclear antigen	Nucleus
0,93	HIST2H2BF	histone cluster 2, H2bf	Nucleus
0,93	SAT1	spermidine/spermine N1-acetyltransferase 1	Cytoplasm
0,932	KIF18A	kinesin family member 18A	Cytoplasm
0,932	PTGR1	prostaglandin reductase 1	Cytoplasm
0,934	SRPX2	sushi-repeat containing protein, X-linked 2	Cytoplasm
0,937	MCM4	minichromosome maintenance complex component 4	Nucleus
0,937	PCNA	proliferating cell nuclear antigen	Nucleus
0,937	PGD	phosphogluconate dehydrogenase	Cytoplasm
0,938	SLC16A7	solute carrier family 16 (monocarboxylate transporter), member 7	Plasma Membrane
0,94	ASAHL1	N-acylsphingosine amidohydrolase (acid ceramidase) 1	Cytoplasm
0,941	ARRB2	arrestin, beta 2	Cytoplasm
0,941	SLC22A4	solute carrier family 22 (organic cation/zwitterion transporter), member 4	Plasma Membrane
0,947	GATM	glycine amidinotransferase (L-arginine:glycine amidinotransferase)	Cytoplasm
0,947	SBNO2	strawberry notch homolog 2 (Drosophila)	Other
0,948	MELK	maternal embryonic leucine zipper kinase	Cytoplasm
0,949	PDGFC	platelet derived growth factor C	Extracellular Space
0,95	Lst1	leukocyte specific transcript 1	Cytoplasm
0,95	PROS1	protein S (alpha)	Extracellular Space
0,951	ACER3	alkaline ceramidase 3	Cytoplasm
0,952	FN1	fibronectin 1	Extracellular Space
0,952	MMP3	matrix metallopeptidase 3 (stromelysin 1, progelatinase)	Extracellular Space
0,953	MYD88	myeloid differentiation primary response 88	Plasma Membrane
0,956	TUBB2A	tubulin, beta 2A class IIa	Cytoplasm
0,957	NIPSNAP3B	nipsnap homolog 3B (C, elegans)	Cytoplasm
0,96	RAP2B	RAP2B, member of RAS oncogene family	Plasma Membrane
0,961	SKAP2	src kinase associated phosphoprotein 2	Cytoplasm
0,969	NCAPH	non-SMC condensin I complex, subunit H	Nucleus
0,969	PRKCD	protein kinase C, delta	Cytoplasm
0,969	SYCE2	synaptonemal complex central element protein 2	Nucleus
0,969	TLR6	toll-like receptor 6	Plasma Membrane
0,971	GPR137B	G protein-coupled receptor 137B	Plasma Membrane

0,976	HELLS	helicase, lymphoid-specific	Nucleus
0,976	SLC29A3	solute carrier family 29 (equilibrative nucleoside transporter), member 3	Plasma Membrane
0,977	PLA2G15	phospholipase A2, group XV	Cytoplasm
0,978	RGS2	regulator of G-protein signaling 2, 24kDa	Nucleus
0,991	FNIP2	folliculin interacting protein 2	Cytoplasm
0,993	KIAA1644	KIAA1644	Other
1,000	CHRN	cholinergic receptor, nicotinic, delta (muscle)	Plasma Membrane
1,001	C10orf54	chromosome 10 open reading frame 54	Other
1,002	KIF22	kinesin family member 22	Nucleus
1,002	MFSD1	major facilitator superfamily domain containing 1	Other
1,008	ANPEP	alanine (membrane) aminopeptidase	Plasma Membrane
1,009	HK3	hexokinase 3 (white cell)	Cytoplasm
1,010	RAB8B	RAB8B, member RAS oncogene family	Cytoplasm
1,014	PTPRJ	protein tyrosine phosphatase, receptor type, J	Plasma Membrane
1,014	RAB31	RAB31, member RAS oncogene family	Cytoplasm
1,015	CDKN1A	cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (p21, Cip1)	Nucleus
1,016	DAB2	Dab, mitogen-responsive phosphoprotein, homolog 2 (Drosophila)	Plasma Membrane
1,016	SPC25	SPC25, NDC80 kinetochore complex component	Cytoplasm
1,022	THBS1	thrombospondin 1	Extracellular Space
1,023	PLEKHO2	pleckstrin homology domain containing, family O member 2	Cytoplasm
1,026	NPC2	Niemann-Pick disease, type C2	Extracellular Space
1,028	UHRF1	ubiquitin-like with PHD and ring finger domains 1	Nucleus
1,029	CLIC1	chloride intracellular channel 1	Nucleus
1,031	CDCA3	cell division cycle associated 3	Cytoplasm
1,031	GALC	galactosylceramidase	Cytoplasm
1,031	PLD3	phospholipase D family, member 3	Cytoplasm
1,034	ASPM	asp (abnormal spindle) homolog, microcephaly associated (Drosophila)	Nucleus
1,034	ATAD2	ATPase family, AAA domain containing 2	Nucleus
1,036	PGAM1	phosphoglycerate mutase 1 (brain)	Cytoplasm
1,036	PGAM1	phosphoglycerate mutase 1 (brain)	Cytoplasm
1,038	EDEM1	ER degradation enhancer, mannosidase alpha-like 1	Cytoplasm
1,040	CCNE1	cyclin E1	Nucleus
1,042	ME2	malic enzyme 2, NAD(+)-dependent, mitochondrial	Cytoplasm
1,045	ATP6V1A	ATPase, H ⁺ transporting, lysosomal 70kDa, V1 subunit A	Plasma Membrane
1,047	CDCA8	cell division cycle associated 8	Nucleus
1,047	GALNS	galactosamine (N-acetyl)-6-sulfate sulfatase	Cytoplasm
1,048	FGR	feline Gardner-Rasheed sarcoma viral oncogene homolog	Nucleus
1,049	CLEC10A	C-type lectin domain family 10, member A	Plasma Membrane
1,049	F5	coagulation factor V (proaccelerin, labile factor)	Plasma Membrane
1,056	EFHD2	EF-hand domain family, member D2	Other
1,056	SLC2A6	solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter), member 6	Plasma Membrane
1,057	UBASH3B	ubiquitin associated and SH3 domain containing B	Other
1,058	Gm13150/Znf41-ps	ZNF41, pseudogene	Other
1,061	S100A6	S100 calcium binding protein A6	Cytoplasm
1,063	CKAP2L	cytoskeleton associated protein 2-like	Cytoplasm
1,064	CENPI	centromere protein I	Nucleus
1,064	TNFRSF11A	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 11a, NFkB activator	Plasma Membrane
1,065	G6PD	glucose-6-phosphate dehydrogenase	Cytoplasm
1,067	GDA	guanine deaminase	Cytoplasm
1,068	CENPM	centromere protein M	Cytoplasm
1,070	MRC1	mannose receptor, C type 1	Plasma Membrane
1,070	TYMS	thymidylate synthetase	Nucleus
1,072	Nlrp1c-ps	NLR family, pyrin domain containing 1C, pseudogene	Other
1,074	LRRC17	leucine rich repeat containing 17	Extracellular Space
1,074	TCF19	transcription factor 19	Nucleus
1,076	FUCA2	fucosidase, alpha-L- 2, plasma	Extracellular Space
1,078	NAAA	N-acyl ethanolamine acid amidase	Cytoplasm
1,078	PLXNB2	plexin B2	Plasma Membrane
1,080	EMP3	epithelial membrane protein 3	Plasma Membrane
1,080	TRIP13	thyroid hormone receptor interactor 13	Cytoplasm
1,081	ASNS	asparagine synthetase (glutamine-hydrolyzing)	Cytoplasm
1,082	PDPN	podoplanin	Plasma Membrane
1,085	MFSD12	major facilitator superfamily domain containing 12	Cytoplasm
1,085	PLK4	polo-like kinase 4	Cytoplasm
1,086	Hist1h2ab (includes others)	histone cluster 1, H2ab	Nucleus
1,089	FUCA1	fucosidase, alpha-L- 1, tissue	Cytoplasm
1,089	NCAM1	neural cell adhesion molecule 1	Plasma Membrane

1,089	PARP12	poly (ADP-ribose) polymerase family, member 12	Nucleus
1,091	HMGB2	high mobility group box 2	Nucleus
1,098	CENPN	centromere protein N	Other
1,100	PGAM1	phosphoglycerate mutase 1 (brain)	Cytoplasm
1,103	CHAF1B	chromatin assembly factor 1, subunit B (p60)	Nucleus
1,106	DLGAP5	discs, large (Drosophila) homolog-associated protein 5	Nucleus
1,106	STIL	SCL/TAL1 interrupting locus	Nucleus
1,107	CX3CR1	chemokine (C-X3-C motif) receptor 1	Plasma Membrane
1,107	LITAF	lipopolysaccharide-induced TNF factor	Nucleus
1,109	DEPDC1	DEP domain containing 1	Nucleus
1,109	VCAN	versican	Extracellular Space
1,112	Fcrls	Fc receptor-like S, scavenger receptor	Plasma Membrane
1,112	TF	transferrin	Extracellular Space
1,114	FOXM1	forkhead box M1	Nucleus
1,117	Cd33	CD33 antigen	Plasma Membrane
1,117	CHEK1	checkpoint kinase 1	Nucleus
1,117	DCLRE1C	DNA cross-link repair 1C	Nucleus
1,118	Neur13	neuralized homolog 3 homolog (Drosophila)	Other
1,118	SMC2	structural maintenance of chromosomes 2	Nucleus
1,124	SLFN13	schlafen family member 13	Nucleus
1,127	FTL	ferritin, light polypeptide	Cytoplasm
1,128	NPNT	nephronectin	Plasma Membrane
1,130	NEIL3	nei endonuclease VIII-like 3 (E, coli)	Nucleus
1,133	FTL	ferritin, light polypeptide	Cytoplasm
1,137	SKA3	spindle and kinetochore associated complex subunit 3	Nucleus
1,138	DTL	denticless E3 ubiquitin protein ligase homolog (Drosophila)	Nucleus
1,138	TSPO	translocator protein (18kDa)	Cytoplasm
1,140	CHRNA1	cholinergic receptor, nicotinic, alpha 1 (muscle)	Plasma Membrane
1,140	HMGB2	high mobility group box 2	Nucleus
1,144	ANXA2	annexin A2	Plasma Membrane
1,144	PIK3CG	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, catalytic subunit gamma	Cytoplasm
1,146	AIF1L	allograft inflammatory factor 1-like	Plasma Membrane
1,146	SH3BP2	SH3-domain binding protein 2	Cytoplasm
1,147	MAN2B1	mannosidase, alpha, class 2B, member 1	Cytoplasm
1,150	CXCL16	chemokine (C-X-C motif) ligand 16	Extracellular Space
1,155	NRROS	negative regulator of reactive oxygen species	Other
1,157	KIF15	kinesin family member 15	Nucleus
1,157	RNH1	ribonuclease/angiogenin inhibitor 1	Cytoplasm
1,158	FTL	ferritin, light polypeptide	Cytoplasm
1,159	HIST2H3C (includes others)	histone cluster 2, H3c	Nucleus
1,161	FABP5	fatty acid binding protein 5 (psoriasis-associated)	Cytoplasm
1,161	Gm13150/Znf41-ps	ZNF41, pseudogene	Other
1,162	CA13	carbonic anhydrase XIII	Cytoplasm
1,162	DBF4	DBF4 homolog (S, cerevisiae)	Nucleus
1,164	TNC	tenascin C	Extracellular Space
1,165	FXYD5	FXYD domain containing ion transport regulator 5	Plasma Membrane
1,166	CNDP2	CNDP dipeptidase 2 (metallopeptidase M20 family)	Cytoplasm
1,166	IQGAP2	IQ motif containing GTPase activating protein 2	Cytoplasm
1,167	MLKL	mixed lineage kinase domain-like	Other
1,169	FTL	ferritin, light polypeptide	Cytoplasm
1,171	POSTN	periostin, osteoblast specific factor	Extracellular Space
1,172	MCM6	minichromosome maintenance complex component 6	Nucleus
1,173	CDK6	cyclin-dependent kinase 6	Nucleus
1,173	PLA2G7	phospholipase A2, group VII (platelet-activating factor acetylhydrolase, plasma)	Extracellular Space
1,176	HIST2H3C (includes others)	histone cluster 2, H3c	Nucleus
1,179	HEXA	hexosaminidase A (alpha polypeptide)	Cytoplasm
1,183	Gpr137b-ps	G protein-coupled receptor 137B, pseudogene	Other
1,185	CLEC9A	C-type lectin domain family 9, member A	Plasma Membrane
1,186	DNA2	DNA replication helicase/nuclease 2	Cytoplasm
1,186	TUBB2B	tubulin, beta 2B class IIb	Cytoplasm
1,188	FABP5	fatty acid binding protein 5 (psoriasis-associated)	Cytoplasm
1,188	VASH2	vasohibin 2	Cytoplasm
1,189	RNASEL	ribonuclease L (2',5'-oligoadenylate synthetase-dependent)	Cytoplasm
1,193	CENPA	centromere protein A	Nucleus
1,196	PSAT1	phosphoserine aminotransferase 1	Cytoplasm
1,201	PTPRJ	protein tyrosine phosphatase, receptor type, J	Plasma Membrane
1,203	SLC9A9	solute carrier family 9, subfamily A (NHE9, cation proton antiporter)	Cytoplasm

		9), member 9	
1,205	PRIM1	primase, DNA, polypeptide 1 (49kDa)	Nucleus
1,205	RAB32	RAB32, member RAS oncogene family	Cytoplasm
1,206	HLA-B	major histocompatibility complex, class I, B	Plasma Membrane
1,207	CORO2A	coronin, actin binding protein, 2A	Cytoplasm
1,216	ABCG1	ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 1	Plasma Membrane
1,223	ESCO2	establishment of sister chromatid cohesion N-acetyltransferase 2	Nucleus
1,223	FRRS1	ferric-chelate reductase 1	Plasma Membrane
1,225	CD14	CD14 molecule	Plasma Membrane
1,225	CTSC	cathepsin C	Cytoplasm
1,226	9830107B12Rik (includes others)	RIKEN cDNA B430306N03 gene	Other
1,226	SPG21	spastic paraplegia 21 (autosomal recessive, Mast syndrome)	Plasma Membrane
1,228	HIST1H1B	histone cluster 1, H1b	Nucleus
1,228	STAB1	stabilin 1	Plasma Membrane
1,229	INPP5D	inositol polyphosphate-5-phosphatase, 145kDa	Cytoplasm
1,231	CASC5	cancer susceptibility candidate 5	Nucleus
1,232	ADA	adenosine deaminase	Cytoplasm
1,232	CTSB	cathepsin B	Cytoplasm
1,233	ITGA4	integrin, alpha 4 (antigen CD49D, alpha 4 subunit of VLA-4 receptor)	Plasma Membrane
1,234	Bex1	brain expressed gene 1	Other
1,235	PYCARD	PYD and CARD domain containing	Cytoplasm
1,236	PIK3R5	phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 5	Cytoplasm
1,237	CSF2RA	colony stimulating factor 2 receptor, alpha, low-affinity (granulocyte-macrophage)	Plasma Membrane
1,241	SLFN13	schlafen family member 13	Nucleus
1,242	F7	coagulation factor VII (serum prothrombin conversion accelerator)	Plasma Membrane
1,244	P2RY12	purinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 12	Plasma Membrane
1,245	Ear2 (includes others)	eosinophil-associated, ribonuclease A family, member 2	Cytoplasm
1,253	DEPDC1	DEP domain containing 1	Nucleus
1,255	A630033H20Rik	RIKEN cDNA A630033H20 gene	Plasma Membrane
1,256	TIFA	TRAF-interacting protein with forkhead-associated domain	Other
1,259	SLC38A1	solute carrier family 38, member 1	Plasma Membrane
1,260	CD300LD	CD300 molecule-like family member d	Plasma Membrane
1,263	KIF4A	kinesin family member 4A	Nucleus
1,263	UBE2C	ubiquitin-conjugating enzyme E2C	Cytoplasm
1,264	GUSB	glucuronidase, beta	Cytoplasm
1,264	NUF2	NUF2, NDC80 kinetochore complex component	Nucleus
1,266	IFI30	interferon, gamma-inducible protein 30	Cytoplasm
1,270	GPRI14	G protein-coupled receptor 114	Plasma Membrane
1,275	Ear2 (includes others)	eosinophil-associated, ribonuclease A family, member 2	Cytoplasm
1,276	B4GALT6	UDP-Gal:betaGlcNAc beta 1,4- galactosyltransferase, polypeptide 6	Cytoplasm
1,280	SLC25A24	solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; phosphate carrier), member 24	Cytoplasm
1,283	Gm9733	predicted gene 9733	Other
1,290	TMEM154	transmembrane protein 154	Other
1,293	SAMHD1	SAM domain and HD domain 1	Nucleus
1,295	MT1H	metallothionein 1H	Other
1,298	CTHRC1	collagen triple helix repeat containing 1	Extracellular Space
1,298	PLIN2	perilipin 2	Plasma Membrane
1,299	ITGAX	integrin, alpha X (complement component 3 receptor 4 subunit)	Plasma Membrane
1,300	Emr4	EGF-like module containing, mucin-like, hormone receptor-like sequence 4	Plasma Membrane
1,302	ALOX15	arachidonate 15-lipoxygenase	Cytoplasm
1,303	CD300LD	CD300 molecule-like family member d	Plasma Membrane
1,311	F13A1	coagulation factor XIII, A1 polypeptide	Extracellular Space
1,311	MS4A8	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 8	Plasma Membrane
1,313	Tmsb4x (includes others)	thymosin, beta 4, X chromosome	Cytoplasm
1,314	ANXA4	annexin A4	Plasma Membrane
1,314	ZNF761	zinc finger protein 761	Nucleus
1,315	AIF1	allograft inflammatory factor 1	Nucleus
1,315	Trim30a/Trim30d	tripartite motif-containing 30A	Cytoplasm
1,316	HLA-DQB1	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1	Plasma Membrane
1,316	PBK	PDZ binding kinase	Cytoplasm
1,317	RACGAP1	Rac GTPase activating protein 1	Cytoplasm
1,318	Cd209a	Cd209a antigen	Plasma Membrane
1,318	CEP55	centrosomal protein 55kDa	Cytoplasm
1,320	HLA-DRB1	major histocompatibility complex, class II, DR beta 1	Plasma Membrane

1,325	CASP4	caspase 4, apoptosis-related cysteine peptidase	Cytoplasm
1,325	KIF20A	kinesin family member 20A	Cytoplasm
1,326	PLXNC1	plexin C1	Plasma Membrane
1,326	Trim30a/Trim30d	tripartite motif-containing 30A	Cytoplasm
1,331	Tmsb4x (includes others)	thymosin, beta 4, X chromosome	Cytoplasm
1,335	KIF2C	kinesin family member 2C	Nucleus
1,338	LRRC25	leucine rich repeat containing 25	Other
1,340	BTk	Bruton agammaglobulinemia tyrosine kinase	Cytoplasm
1,341	APOE	apolipoprotein E	Extracellular Space
1,341	HIST1H2AD	histone cluster 1, H2ad	Nucleus
1,342	FOLR2	folate receptor 2 (fetal)	Plasma Membrane
1,342	NCAPG2	non-SMC condensin II complex, subunit G2	Nucleus
1,344	SGPL1	sphingosine-1-phosphate lyase 1	Cytoplasm
1,345	HMMR	hyaluronan-mediated motility receptor (RHAMM)	Plasma Membrane
1,348	PQLC3	PQ loop repeat containing 3	Other
1,350	BAIAP2L1	BAI1-associated protein 2-like 1	Cytoplasm
1,350	Ear2 (includes others)	eosinophil-associated, ribonuclease A family, member 2	Cytoplasm
1,354	GRN	granulin	Extracellular Space
1,362	FAM111A	family with sequence similarity 111, member A	Other
1,365	Gm4975/Sgol2	shugoshin-like 2 (S, pombe)	Nucleus
1,365	NUSAP1	nucleolar and spindle associated protein 1	Nucleus
1,367	BUB1B	BUB1 mitotic checkpoint serine/threonine kinase B	Nucleus
1,368	ASF1B	anti-silencing function 1B histone chaperone	Nucleus
1,370	AIM2	absent in melanoma 2	Cytoplasm
1,373	ANXA1	annexin A1	Plasma Membrane
1,377	IL7R	interleukin 7 receptor	Plasma Membrane
1,378	KIF23	kinesin family member 23	Cytoplasm
1,380	PTPRC	protein tyrosine phosphatase, receptor type, C	Plasma Membrane
1,383	ZDBF2	zinc finger, DBF-type containing 2	Other
1,384	ALDH3B1	aldehyde dehydrogenase 3 family, member B1	Cytoplasm
1,388	CYBA	cytochrome b-245, alpha polypeptide	Cytoplasm
1,395	Ear2 (includes others)	eosinophil-associated, ribonuclease A family, member 2	Cytoplasm
1,398	Cd52	CD52 antigen	Other
1,400	ZWILCH	zwilch kinetochore protein	Nucleus
1,402	CTSZ	cathepsin Z	Cytoplasm
1,402	TNFRSF1B	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1B	Plasma Membrane
1,410	ARHGAP11A	Rho GTPase activating protein 11A	Cytoplasm
1,411	RGS10	regulator of G-protein signaling 10	Cytoplasm
1,416	HIST1H2BB	histone cluster 1, H2bb	Nucleus
1,421	LILRB3	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B (with TM and ITIM domains), member 3	Plasma Membrane
1,422	CSF2RB	colony stimulating factor 2 receptor, beta, low-affinity (granulocyte-macrophage)	Plasma Membrane
1,423	Snord118	small nucleolar RNA, C/D box 118	Other
1,423	Snord118	small nucleolar RNA, C/D box 118	Other
1,424	ALDH1A2	aldehyde dehydrogenase 1 family, member A2	Cytoplasm
1,424	TCIRG1	T-cell, immune regulator 1, ATPase, H+ transporting, lysosomal V0 subunit A3	Plasma Membrane
1,425	Gm4951	predicted gene 4951	Other
1,428	NCAPG	non-SMC condensin I complex, subunit G	Nucleus
1,428	PEG10	paternally expressed 10	Nucleus
1,436	F10	coagulation factor X	Extracellular Space
1,436	RTP4	receptor (chemosensory) transporter protein 4	Plasma Membrane
1,439	CD300LF	CD300 molecule-like family member f	Plasma Membrane
1,439	RBM47	RNA binding motif protein 47	Other
1,440	AURKB	aurora kinase B	Nucleus
1,440	LCP2	lymphocyte cytosolic protein 2 (SH2 domain containing leukocyte protein of 76kDa)	Cytoplasm
1,441	SOX11	SRY (sex determining region Y)-box 11	Nucleus
1,442	SLA	Src-like-adaptor	Plasma Membrane
1,447	CENPE	centromere protein E, 312kDa	Nucleus
1,458	TPX2	TPX2, microtubule-associated	Nucleus
1,462	UNC93B1	unc-93 homolog B1 (C, elegans)	Cytoplasm
1,466	IRF8	interferon regulatory factor 8	Nucleus
1,466	KIAA1524	KIAA1524	Cytoplasm
1,469	CCDC109B	coiled-coil domain containing 109B	Cytoplasm
1,469	MAD2L1	MAD2 mitotic arrest deficient-like 1 (yeast)	Nucleus
1,472	SELPLG	selectin P ligand	Plasma Membrane
1,479	RASSF4	Ras association (RalGDS/AF-6) domain family member 4	Other

1,480	CD200R1L	CD200 receptor 1-like	Plasma Membrane
1,480	DCLK1	doublecortin-like kinase 1	Other
1,483	HCK	hemopoietic cell kinase	Cytoplasm
1,484	TNIP3	TNFAIP3 interacting protein 3	Other
1,491	FAM105A	family with sequence similarity 105, member A	Other
1,491	Slfn2	schlafen 2	Cytoplasm
1,495	IRF5	interferon regulatory factor 5	Nucleus
1,497	RRM2	ribonucleotide reductase M2	Nucleus
1,499	ALCAM	activated leukocyte cell adhesion molecule	Plasma Membrane
1,499	CASP1	caspase 1, apoptosis-related cysteine peptidase	Cytoplasm
1,501	RENBP	renin binding protein	Other
1,502	PLK1	polo-like kinase 1	Nucleus
1,505	C1QC	complement component 1, q subcomponent, C chain	Extracellular Space
1,509	MASTL	microtubule associated serine/threonine kinase-like	Cytoplasm
1,513	NCF1	neutrophil cytosolic factor 1	Cytoplasm
1,515	Naip2	NLR family, apoptosis inhibitory protein 2	Other
1,518	CLEC6A	C-type lectin domain family 6, member A	Plasma Membrane
1,519	CTSH	cathepsin H	Cytoplasm
1,520	VAV1	vav 1 guanine nucleotide exchange factor	Nucleus
1,521	HLA-DQA1	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1	Plasma Membrane
1,524	CSF1R	colony stimulating factor 1 receptor	Plasma Membrane
1,525	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
1,531	CLEC5A	C-type lectin domain family 5, member A	Plasma Membrane
1,531	KNSTRN	kinetochore-localized astrin/SPAG5 binding protein	Other
1,533	GPR141	G protein-coupled receptor 141	Plasma Membrane
1,534	RASGEF1B	RasGEF domain family, member 1B	Other
1,538	C1QA	complement component 1, q subcomponent, A chain	Extracellular Space
1,539	MYO5A	myosin VA (heavy chain 12, myoxin)	Cytoplasm
1,540	9830107B12Rik (includes others)	RIKEN cDNA B430306N03 gene	Other
1,543	CFP	complement factor properdin	Extracellular Space
1,545	RRAD	Ras-related associated with diabetes	Cytoplasm
1,546	P2RX4	purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 4	Plasma Membrane
1,553	CERS6	ceramide synthase 6	Nucleus
1,553	LGALS3BP	lectin, galactoside-binding, soluble, 3 binding protein	Plasma Membrane
1,554	HEXB	hexosaminidase B (beta polypeptide)	Cytoplasm
1,556	DOCK2	dedicator of cytokinesis 2	Cytoplasm
1,557	ATP8B4	ATPase, class I, type 8B, member 4	Other
1,559	DDX60	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 60	Cytoplasm
1,563	NFAM1	NFAT activating protein with ITAM motif 1	Plasma Membrane
1,564	C1QTNF3	C1q and tumor necrosis factor related protein 3	Extracellular Space
1,566	SERPINE1	serpin peptidase inhibitor, clade E (nexin, plasminogen activator inhibitor type 1), member 1	Extracellular Space
1,569	Nt5dc2	5'-nucleotidase domain containing 2	Other
1,570	E2F8	E2F transcription factor 8	Nucleus
1,575	TUBB2B	tubulin, beta 2B class IIb	Cytoplasm
1,581	CYSLTR1	cysteinyl leukotriene receptor 1	Plasma Membrane
1,582	PF4	platelet factor 4	Extracellular Space
1,583	LCP1	lymphocyte cytosolic protein 1 (L-plastin)	Cytoplasm
1,584	PRR11	proline rich 11	Other
1,588	ARL11	ADP-ribosylation factor-like 11	Other
1,588	HGF	hepatocyte growth factor (hepapoietin A; scatter factor)	Extracellular Space
1,589	CSF3R	colony stimulating factor 3 receptor (granulocyte)	Plasma Membrane
1,589	MIS18BP1	MIS18 binding protein 1	Nucleus
1,594	NPL	N-acetylneuraminate pyruvate lyase (dihydrodipicolinate synthase)	Other
1,595	CFB	complement factor B	Extracellular Space
1,599	HP	haptoglobin	Extracellular Space
1,600	Gm6377	predicted gene 6377	Other
1,600	P4HA3	prolyl 4-hydroxylase, alpha polypeptide III	Other
1,604	SLFN13	schlafen family member 13	Nucleus
1,607	Abcg3	ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 3	Plasma Membrane
1,611	DHX58	DEXH (Asp-Glu-X-His) box polypeptide 58	Cytoplasm
1,613	LY9	lymphocyte antigen 9	Plasma Membrane
1,613	RGS18	regulator of G-protein signaling 18	Cytoplasm
1,619	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
1,623	NAIP	NLR family, apoptosis inhibitory protein	Other
1,625	ABCC3	ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 3	Plasma Membrane
1,626	CDK1	cyclin-dependent kinase 1	Nucleus
1,626	KIAA0101	KIAA0101	Nucleus
1,628	NCF2	neutrophil cytosolic factor 2	Cytoplasm

1,629	OAS2	2'-5'-oligoadenylate synthetase 2, 69/71kDa	Cytoplasm
1,632	KIAA0101	KIAA0101	Nucleus
1,649	LPCAT2	lysophosphatidylcholine acyltransferase 2	Cytoplasm
1,661	5430435G22Rik	RIKEN cDNA 5430435G22 gene	Cytoplasm
1,661	CD44	CD44 molecule (Indian blood group)	Plasma Membrane
1,661	SIRPA	signal-regulatory protein alpha	Plasma Membrane
1,663	LAPTM5	lysosomal protein transmembrane 5	Plasma Membrane
1,665	CXCL9	chemokine (C-X-C motif) ligand 9	Extracellular Space
1,665	LPXN	leupaxin	Cytoplasm
1,667	MYOG	myogenin (myogenic factor 4)	Nucleus
1,670	CSTB	cystatin B (stefin B)	Cytoplasm
1,674	PIK3AP1	phosphoinositide-3-kinase adaptor protein 1	Cytoplasm
1,677	Phf11a/Phf11b	PHD finger protein 11A	Other
1,679	Nxpe5	neurexophilin and PC-esterase domain family, member 5	Other
1,683	TIFAB	TRAF-interacting protein with forkhead-associated domain, family member B	Other
1,684	CCNB2	cyclin B2	Cytoplasm
1,686	PTPLAD2	protein tyrosine phosphatase-like A domain containing 2	Other
1,688	GAPT	GRB2-binding adaptor protein, transmembrane	Other
1,688	KIF11	kinesin family member 11	Nucleus
1,688	MKI67	antigen identified by monoclonal antibody Ki-67	Nucleus
1,696	MYOF	myoferlin	Nucleus
1,696	PILRA	paired immunoglobulin-like type 2 receptor alpha	Plasma Membrane
1,699	CCR3	chemokine (C-C motif) receptor 3	Plasma Membrane
1,701	CKS2	CDC28 protein kinase regulatory subunit 2	Other
1,708	LACC1	laccase (multicopper oxidoreductase) domain containing 1	Other
1,710	CD300A	CD300a molecule	Plasma Membrane
1,719	CAPG	capping protein (actin filament), gelsolin-like	Nucleus
1,720	CXCL10	chemokine (C-X-C motif) ligand 10	Extracellular Space
1,721	CD300LD	CD300 molecule-like family member d	Plasma Membrane
1,727	F630028O10Rik	RIKEN cDNA F630028O10 gene	Other
1,727	THEMIS2	thymocyte selection associated family member 2	Other
1,728	CD300LB	CD300 molecule-like family member b	Plasma Membrane
1,730	C19orf38	chromosome 19 open reading frame 38	Other
1,733	BCL2A1	BCL2-related protein A1	Cytoplasm
1,733	Hist1h2ab (includes others)	histone cluster 1, H2ab	Nucleus
1,734	CYTH4	cytohesin 4	Cytoplasm
1,735	PRUNE2	prune homolog 2 (Drosophila)	Other
1,740	IL10RA	interleukin 10 receptor, alpha	Plasma Membrane
1,744	FYB	FYN binding protein	Nucleus
1,748	RUNX1	runt-related transcription factor 1	Nucleus
1,750	TM4SF19	transmembrane 4 L six family member 19	Other
1,752	LAT2	linker for activation of T cells family, member 2	Plasma Membrane
1,764	ECT2	epithelial cell transforming sequence 2 oncogene	Cytoplasm
1,769	HAVCR2	hepatitis A virus cellular receptor 2	Plasma Membrane
1,771	GPR65	G protein-coupled receptor 65	Plasma Membrane
1,774	PRC1	protein regulator of cytokinesis 1	Nucleus
1,780	ATP1A3	ATPase, Na ⁺ /K ⁺ transporting, alpha 3 polypeptide	Plasma Membrane
1,784	BCL2A1	BCL2-related protein A1	Cytoplasm
1,785	SLC15A3	solute carrier family 15 (oligopeptide transporter), member 3	Cytoplasm
1,789	GLA	galactosidase, alpha	Cytoplasm
1,795	AKR1B10	aldo-keto reductase family 1, member B10 (aldose reductase)	Cytoplasm
1,799	CKS2	CDC28 protein kinase regulatory subunit 2	Other
1,802	Ms4a6b	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6B	Other
1,814	CD200R1	CD200 receptor 1	Plasma Membrane
1,819	CKS2	CDC28 protein kinase regulatory subunit 2	Other
1,823	CD48	CD48 molecule	Plasma Membrane
1,824	IL1RN	interleukin 1 receptor antagonist	Extracellular Space
1,827	Lyz1/Lyz2	lysozyme 2	Cytoplasm
1,843	CD53	CD53 molecule	Plasma Membrane
1,850	TOP2A	topoisomerase (DNA) II alpha 170kDa	Nucleus
1,851	MMP12	matrix metalloproteinase 12 (macrophage elastase)	Extracellular Space
1,852	MMP19	matrix metalloproteinase 19	Extracellular Space
1,863	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
1,865	SH2D1B	SH2 domain containing 1B	Cytoplasm
1,866	P2RY6	pyrimidinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 6	Plasma Membrane
1,867	R3HDM1	R3H domain containing-like	Other
1,870	TMEM106A	transmembrane protein 106A	Other
1,871	BCL2A1	BCL2-related protein A1	Cytoplasm
1,873	Gm5431	predicted gene 5431	Other

1,877	PRUNE2	prune homolog 2 (Drosophila)	Other
1,891	FCGR2A	Fc fragment of IgG, low affinity IIa, receptor (CD32)	Plasma Membrane
1,892	BST1	bone marrow stromal cell antigen 1	Plasma Membrane
1,898	C5AR1	complement component 5a receptor 1	Plasma Membrane
1,901	CLEC4E	C-type lectin domain family 4, member E	Plasma Membrane
1,904	TUBB6	tubulin, beta 6 class V	Cytoplasm
1,905	EMB	embigin	Plasma Membrane
1,907	PTAFR	platelet-activating factor receptor	Plasma Membrane
1,910	NAIP	NLR family, apoptosis inhibitory protein	Other
1,919	C1QB	complement component 1, q subcomponent, B chain	Extracellular Space
1,919	Sirpb1a (includes others)	signal-regulatory protein beta 1A	Plasma Membrane
1,951	LILRB3	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B (with TM and ITIM domains), member 3	Plasma Membrane
1,951	NCKAP1L	NCK-associated protein 1-like	Plasma Membrane
1,960	LIPA	lipase A, lysosomal acid, cholesterol esterase	Cytoplasm
1,960	SOAT1	sterol O-acyltransferase 1	Cytoplasm
1,961	SIGLEC1	sialic acid binding Ig-like lectin 1, sialoadhesin	Plasma Membrane
1,965	MYH8	myosin, heavy chain 8, skeletal muscle, perinatal	Cytoplasm
1,970	PLD4	phospholipase D family, member 4	Extracellular Space
1,971	TLR1	toll-like receptor 1	Plasma Membrane
1,973	Pira11	paired-Ig-like receptor A11	Other
1,980	Oasl2	2'-5' oligoadenylate synthetase-like 2	Other
1,982	IFIT3	interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 3	Cytoplasm
1,983	ANLN	anillin, actin binding protein	Cytoplasm
1,985	LGMN	legumain	Cytoplasm
2,005	Clec4a1	C-type lectin domain family 4, member a1	Other
2,005	SPI1	spleen focus forming virus (SFFV) proviral integration oncogene	Nucleus
2,008	Ly21/Lyz2	lysozyme 2	Cytoplasm
2,016	OAS1	2'-5'-oligoadenylate synthetase 1, 40/46kDa	Cytoplasm
2,022	CLEC4A	C-type lectin domain family 4, member A	Plasma Membrane
2,026	CCNA2	cyclin A2	Nucleus
2,028	S100A4	S100 calcium binding protein A4	Cytoplasm
2,031	IRF7	interferon regulatory factor 7	Nucleus
2,033	CLEC4D	C-type lectin domain family 4, member D	Plasma Membrane
2,036	Ms4a4b (includes others)	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 4B	Plasma Membrane
2,038	RETNLB	resistin like beta	Extracellular Space
2,045	LAIR1	leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor 1	Plasma Membrane
2,049	TBXAS1	thromboxane A synthase 1 (platelet)	Plasma Membrane
2,077	TFEC	transcription factor EC	Nucleus
2,087	MS4A4A	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 4A	Other
2,097	CD300C	CD300c molecule	Plasma Membrane
2,100	Ccnb1/Gm5593	cyclin B1	Nucleus
2,101	APOC2	apolipoprotein C-II	Extracellular Space
2,101	IFI27L2	interferon, alpha-inducible protein 27-like 2	Other
2,105	CYP4F2	cytochrome P450, family 4, subfamily F, polypeptide 2	Cytoplasm
2,105	Ifitm6	interferon induced transmembrane protein 6	Other
2,114	ITGB2	integrin, beta 2 (complement component 3 receptor 3 and 4 subunit)	Plasma Membrane
2,122	HPSE	heparanase	Plasma Membrane
2,126	SLAMF7	SLAM family member 7	Plasma Membrane
2,131	Ccnb1/Gm5593	cyclin B1	Nucleus
2,134	CCR1	chemokine (C-C motif) receptor 1	Plasma Membrane
2,136	TMEM8C	transmembrane protein 8C	Plasma Membrane
2,145	HPGDS	hematopoietic prostaglandin D synthase	Cytoplasm
2,167	PCBD1	pterin-4 alpha-carbinolamine dehydratase/dimerization cofactor of hepatocyte nuclear factor 1 alpha	Nucleus
2,169	FCGR2B	Fc fragment of IgG, low affinity IIb, receptor (CD32)	Plasma Membrane
2,176	SLC37A2	solute carrier family 37 (glucose-6-phosphate transporter), member 2	Other
2,190	BUB1	BUB1 mitotic checkpoint serine/threonine kinase	Nucleus
2,194	MYO1F	myosin IF	Cytoplasm
2,203	Ccnb1/Gm5593	cyclin B1	Nucleus
2,211	Ccl9	chemokine (C-C motif) ligand 9	Extracellular Space
2,226	Olfr1372-ps1	olfactory receptor 1372, pseudogene 1	Other
2,246	VSIG4	V-set and immunoglobulin domain containing 4	Plasma Membrane
2,249	Sirpb1a (includes others)	signal-regulatory protein beta 1A	Plasma Membrane
2,252	GLIPR1	GLI pathogenesis-related 1	Extracellular Space
2,255	CHRNA3	cholinergic receptor, nicotinic, gamma (muscle)	Plasma Membrane
2,266	FCER1G	Fc fragment of IgE, high affinity I, receptor for; gamma	Plasma Membrane

		polypeptide	
2,277	MMP8	matrix metalloproteinase 8 (neutrophil collagenase)	Extracellular Space
2,296	MYL4	myosin, light chain 4, alkali; atrial, embryonic	Cytoplasm
2,331	LY86	lymphocyte antigen 86	Plasma Membrane
2,339	SLC11A1	solute carrier family 11 (proton-coupled divalent metal ion transporter), member 1	Plasma Membrane
2,378	ADAM8	ADAM metalloproteinase domain 8	Plasma Membrane
2,383	MS4A14	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 14	Other
2,384	ALOX5AP	arachidonate 5-lipoxygenase-activating protein	Plasma Membrane
2,400	ARG1	arginase 1	Cytoplasm
2,403	PLAC8	placenta-specific 8	Nucleus
2,413	ANKRD1	ankyrin repeat domain 1 (cardiac muscle)	Cytoplasm
2,454	Ms4a6c	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6C	Other
2,473	Chi3l3/Chi3l4	chitinase 3-like 3	Extracellular Space
2,497	PPBP	pro-platelet basic protein (chemokine (C-X-C motif) ligand 7)	Extracellular Space
2,514	TYROBP	TYRO protein tyrosine kinase binding protein	Plasma Membrane
2,520	CD180	CD180 molecule	Plasma Membrane
2,525	CCR5	chemokine (C-C motif) receptor 5 (gene/pseudogene)	Plasma Membrane
2,525	CCR5	chemokine (C-C motif) receptor 5 (gene/pseudogene)	Plasma Membrane
2,552	CYBB	cytochrome b-245, beta polypeptide	Cytoplasm
2,575	PLEK	pleckstrin	Cytoplasm
2,579	Milr1	mast cell immunoglobulin like receptor 1	Plasma Membrane
2,593	Clec4a3	C-type lectin domain family 4, member a3	Other
2,612	APOBEC1	apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide 1	Cytoplasm
2,620	IGSF6	immunoglobulin superfamily, member 6	Plasma Membrane
2,625	TREM2	triggering receptor expressed on myeloid cells 2	Plasma Membrane
2,636	DPEP2	dipeptidase 2	Plasma Membrane
2,654	Gm5150	predicted gene 5150	Other
2,690	FCGR1A	Fc fragment of IgG, high affinity Ia, receptor (CD64)	Plasma Membrane
2,698	Ccl8	chemokine (C-C motif) ligand 8	Extracellular Space
2,708	EMR1	egf-like module containing, mucin-like, hormone receptor-like 1	Plasma Membrane
2,731	MSR1	macrophage scavenger receptor 1	Plasma Membrane
2,766	Ly6a (includes others)	lymphocyte antigen 6 complex, locus A	Plasma Membrane
2,778	Ccl6	chemokine (C-C motif) ligand 6	Extracellular Space
2,782	CLEC7A	C-type lectin domain family 7, member A	Plasma Membrane
2,783	Sirpb1a (includes others)	signal-regulatory protein beta 1A	Plasma Membrane
2,812	MS4A7	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 7	Other
2,860	CD84	CD84 molecule	Plasma Membrane
2,867	Gp49a/Lilrb4	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B, member 4	Other
2,930	Wfdc17	WAP four-disulfide core domain 17	Other
2,931	ITGAM	integrin, alpha M (complement component 3 receptor 3 subunit)	Plasma Membrane
2,938	SERPINA3	serpin peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antitrypsin), member 3	Extracellular Space
2,945	PRG4	proteoglycan 4	Extracellular Space
2,977	CD68	CD68 molecule	Plasma Membrane
2,994	CLEC12A	C-type lectin domain family 12, member A	Plasma Membrane
2,996	TNNT2	troponin T type 2 (cardiac)	Cytoplasm
3,011	GAL	galanin/GMAP prepropeptide	Extracellular Space
3,060	TIMP1	TIMP metalloproteinase inhibitor 1	Extracellular Space
3,079	SLFN12L	schlafen family member 12-like	Other
3,097	MS4A6A	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6A	Other
3,151	MYH3	myosin, heavy chain 3, skeletal muscle, embryonic	Cytoplasm
3,180	C3AR1	complement component 3a receptor 1	Plasma Membrane
3,181	CTSS	cathepsin S	Cytoplasm
3,226	CCR2	chemokine (C-C motif) receptor 2	Plasma Membrane
3,437	MPEG1	macrophage expressed 1	Cytoplasm
3,486	Gp49a/Lilrb4	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B, member 4	Other
3,506	CCL7	chemokine (C-C motif) ligand 7	Extracellular Space
3,541	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
3,546	Tlr13	toll-like receptor 13	Cytoplasm
3,584	AKR1E2	aldo-keto reductase family 1, member E2	Cytoplasm
3,626	FCGR3A	Fc fragment of IgG, low affinity IIIa, receptor (CD16a)	Plasma Membrane
3,653	LGALS3	lectin, galactoside-binding, soluble, 3	Extracellular Space
3,746	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
3,812	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
3,842	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space

3,858	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
3,863	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
3,945	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
3,972	Ccl2	chemokine (C-C motif) ligand 2	Extracellular Space
4,009	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
4,051	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
4,235	GPNMB	glycoprotein (transmembrane) nmb	Plasma Membrane
4,576	CCL3L1/CCL3L3	chemokine (C-C motif) ligand 3-like 1	Extracellular Space
4,722	SPP1	secreted phosphoprotein 1	Extracellular Space
4,970	ATP6V0D2	ATPase, H+ transporting, lysosomal 38kDa, V0 subunit d2	Cytoplasm

***Large^{myd-/-}* vs *C57BL* 21 dias**

[illegible]

1,896	MS4A4A	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 4A	Other
1,914	AGTR2	angiotensin II receptor, type 2	Plasma Membrane
1,916	PLEK	pleckstrin	Cytoplasm
1,926	Ccnb1/Gm5593	cyclin B1	Nucleus
1,933	AKR1B10	aldo-keto reductase family 1, member B10 (aldose reductase)	Cytoplasm
1,949	DPEP2	dipeptidase 2	Plasma Membrane
1,967	Ccnb1/Gm5593	cyclin B1	Nucleus
1,974	MMP19	matrix metalloproteinase 19	Extracellular Space
1,976	S100A4	S100 calcium binding protein A4	Cytoplasm
1,995	HP	haptoglobin	Extracellular Space
2,023	R3HDM1	R3H domain containing-like	Other
2,024	Ccl8	chemokine (C-C motif) ligand 8	Extracellular Space
2,042	CLEC7A	C-type lectin domain family 7, member A	Plasma Membrane
2,043	ADAM8	ADAM metalloproteinase domain 8	Plasma Membrane
2,044	APOBEC1	apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide 1	Cytoplasm
2,055	CD84	CD84 molecule	Plasma Membrane
2,095	TUBB6	tubulin, beta 6 class V	Cytoplasm
2,097	TYROBP	TYRO protein tyrosine kinase binding protein	Plasma Membrane
2,105	MS4A7	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 7	Other
2,106	CLEC12A	C-type lectin domain family 12, member A	Plasma Membrane
2,162	TREM2	triggering receptor expressed on myeloid cells 2	Plasma Membrane
2,191	MSR1	macrophage scavenger receptor 1	Plasma Membrane
2,192	Ccl6	chemokine (C-C motif) ligand 6	Extracellular Space
2,205	C3AR1	complement component 3a receptor 1	Plasma Membrane
2,237	ITGAM	integrin, alpha M (complement component 3 receptor 3 subunit)	Plasma Membrane
2,251	PRUNE2	prune homolog 2 (Drosophila)	Other
2,268	PRUNE2	prune homolog 2 (Drosophila)	Other
2,315	CHRNA3	cholinergic receptor, nicotinic, gamma (muscle)	Plasma Membrane
2,317	PRG4	proteoglycan 4	Extracellular Space
2,340	Wfdc17	WAP four-disulfide core domain 17	Other
2,368	CCL7	chemokine (C-C motif) ligand 7	Extracellular Space
2,395	TMEM8C	transmembrane protein 8C	Plasma Membrane
2,430	MYL4	myosin, light chain 4, alkali; atrial, embryonic	Cytoplasm
2,464	PCBD1	pterin-4 alpha-carbinolamine dehydratase/dimerization cofactor of hepatocyte nuclear factor 1 alpha	Nucleus
2,512	BAIAP2L1	BAI1-associated protein 2-like 1	Cytoplasm
2,586	Gp49a/Lilrb4	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B, member 4	Other
2,629	MS4A6A	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6A	Other
2,647	CTSS	cathepsin S	Cytoplasm
2,660	CD68	CD68 molecule	Plasma Membrane
2,678	MPEG1	macrophage expressed 1	Cytoplasm
2,688	Tlr13	toll-like receptor 13	Cytoplasm
2,778	ARHGAP36	Rho GTPase activating protein 36	Cytoplasm
2,820	MYH8	myosin, heavy chain 8, skeletal muscle, perinatal	Cytoplasm
2,841	GAL	galanin/GMAP prepropeptide	Extracellular Space
2,938	ANKRD1	ankyrin repeat domain 1 (cardiac muscle)	Cytoplasm
3,044	MMP12	matrix metalloproteinase 12 (macrophage elastase)	Extracellular Space
3,062	TIMP1	TIMP metalloproteinase inhibitor 1	Extracellular Space
3,087	VSIG4	V-set and immunoglobulin domain containing 4	Plasma Membrane
3,121	SPP1	secreted phosphoprotein 1	Extracellular Space
3,195	Ccl2	chemokine (C-C motif) ligand 2	Extracellular Space
3,211	TNNT2	troponin T type 2 (cardiac)	Cytoplasm
3,235	Gp49a/Lilrb4	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B, member 4	Other
3,244	LGALS3	lectin, galactoside-binding, soluble, 3	Extracellular Space
3,288	SERPINA3	serpin peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 3	Extracellular Space
3,343	MYH3	myosin, heavy chain 3, skeletal muscle, embryonic	Cytoplasm
3,463	AKR1E2	aldo-keto reductase family 1, member E2	Cytoplasm
3,519	CCL3L1/CCL3L3	chemokine (C-C motif) ligand 3-like 1	Extracellular Space
3,519	GNMB	glycoprotein (transmembrane) nmb	Plasma Membrane
3,684	HAL	histidine ammonia-lyase	Cytoplasm
4,084	ATP6V0D2	ATPase, H+ transporting, lysosomal 38kDa, V0 subunit d2	Cytoplasm
5,755	HLA-DRA	major histocompatibility complex, class II, DR alpha	Plasma Membrane

<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-} vs C57BL 21dias</i>			
Fold Change	Symbol	Entrez Gene Name	Location
-2,991	PRND	prion protein 2 (dublet)	Plasma Membrane
-2,885	LGI1	leucine-rich, glioma inactivated 1	Plasma Membrane
-2,868	PMP2	peripheral myelin protein 2	Cytoplasm
-2,221	HOMER2	homer homolog 2 (Drosophila)	Plasma Membrane
-2,189	MYLK4	myosin light chain kinase family, member 4	Other
-2,125	LARGE	like-glycosyltransferase	Cytoplasm
1,404	CXCL13	chemokine (C-X-C motif) ligand 13	Extracellular Space
1,505	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
1,554	C5AR1	complement component 5a receptor 1	Plasma Membrane
1,561	Lyz1/Lyz2	lysozyme 2	Cytoplasm
1,561	MS4A7	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 7	Other
1,566	C1QB	complement component 1, q subcomponent, B chain	Extracellular Space
1,578	LGMN	legumain	Cytoplasm
1,612	Ccl9	chemokine (C-C motif) ligand 9	Extracellular Space
1,619	S100A4	S100 calcium binding protein A4	Cytoplasm
1,653	Sirpb1a (includes others)	signal-regulatory protein beta 1A	Plasma Membrane
1,654	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
1,656	CCNA2	cyclin A2	Nucleus
1,656	Mirg	miRNA containing gene	Other
1,660	Ccnb1/Gm5593	cyclin B1	Nucleus
1,663	mir-154	microRNA 494	Cytoplasm
1,675	Ms4a6c	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6C	Other
1,697	Milr1	mast cell immunoglobulin like receptor 1	Plasma Membrane
1,699	CDKN1A	cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (p21, Cip1)	Nucleus
1,699	R3HDM1	R3H domain containing-like	Other
1,713	CYBB	cytochrome b-245, beta polypeptide	Cytoplasm
1,725	TMEM8C	transmembrane protein 8C	Plasma Membrane
1,732	RUNX1	runt-related transcription factor 1	Nucleus
1,739	Ccnb1/Gm5593	cyclin B1	Nucleus
1,753	TUBB6	tubulin, beta 6 class V	Cytoplasm
1,766	FCGR2B	Fc fragment of IgG, low affinity IIb, receptor (CD32)	Plasma Membrane
1,790	CD84	CD84 molecule	Plasma Membrane
1,803	Ccnb1/Gm5593	cyclin B1	Nucleus
1,805	CHRNA7	cholinergic receptor, nicotinic, gamma (muscle)	Plasma Membrane
1,816	MMP19	matrix metalloproteinase 19	Extracellular Space
1,824	PCBD1	pterin-4 alpha-carbinolamine dehydratase/dimerization cofactor of hepatocyte nuclear factor 1 alpha	Nucleus
1,836	TM4SF19	transmembrane 4 L six family member 19	Other
1,858	HAL	histidine ammonia-lyase	Cytoplasm
1,860	Mirg	miRNA containing gene	Other
1,863	MT1H	metallothionein 1H	Other
1,869	BAIAP2L1	BAI1-associated protein 2-like 1	Cytoplasm
1,879	PRUNE2	prune homolog 2 (Drosophila)	Other
1,891	FCER1G	Fc fragment of IgE, high affinity I, receptor for; gamma polypeptide	Plasma Membrane
1,892	MMP12	matrix metalloproteinase 12 (macrophage elastase)	Extracellular Space
1,898	Snord53	small nucleolar RNA, C/D box 53	Other
1,899	EMB	embigin	Plasma Membrane
1,901	FCGR3A	Fc fragment of IgG, low affinity IIIa, receptor (CD16a)	Plasma Membrane
1,906	ALOX5AP	arachidonate 5-lipoxygenase-activating protein	Plasma Membrane
1,906	SERPINE1	serpin peptidase inhibitor, clade E (nexin, plasminogen activator inhibitor type 1), member 1	Extracellular Space
1,938	PRUNE2	prune homolog 2 (Drosophila)	Other
1,944	TREM2	triggering receptor expressed on myeloid cells 2	Plasma Membrane
1,981	TYROBP	TYRO protein tyrosine kinase binding protein	Plasma Membrane
1,986	PLEK	pleckstrin	Cytoplasm
1,993	CCR1	chemokine (C-C motif) receptor 1	Plasma Membrane
1,995	Serpina3k (includes others)	serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A, member 3K	Extracellular Space
1,997	LILRB3	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B (with TM and ITIM domains), member 3	Plasma Membrane
2,005	GAL	galanin/GMAP prepropeptide	Extracellular Space
2,037	RTL1	retrotransposon-like 1	Other
2,060	ITGAM	integrin, alpha M (complement component 3 receptor 3 subunit)	Plasma Membrane
2,073	MYL4	myosin, light chain 4, alkali; atrial, embryonic	Cytoplasm
2,093	C3AR1	complement component 3a receptor 1	Plasma Membrane

2,094	DPEP2	dipeptidase 2	Plasma Membrane
2,126	MSR1	macrophage scavenger receptor 1	Plasma Membrane
2,147	1700011I03Rik	RIKEN cDNA 1700011I03 gene	Other
2,155	MS4A4A	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 4A	Other
2,204	ANXA8L2 (includes others)	annexin A8-like 2	Plasma Membrane
2,220	ADAM8	ADAM metalloproteinase domain 8	Plasma Membrane
2,252	CLEC4D	C-type lectin domain family 4, member D	Plasma Membrane
2,253	IGSF6	immunoglobulin superfamily, member 6	Plasma Membrane
2,254	CTSS	cathepsin S	Cytoplasm
2,366	MPEG1	macrophage expressed 1	Cytoplasm
2,407	Ccl6	chemokine (C-C motif) ligand 6	Extracellular Space
2,420	Wfdc17	WAP four-disulfide core domain 17	Other
2,431	MT1E	metallothionein 1E	Cytoplasm
2,452	ARHGAP36	Rho GTPase activating protein 36	Cytoplasm
2,517	MS4A6A	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6A	Other
2,540	AKR1E2	aldo-keto reductase family 1, member E2	Cytoplasm
2,573	Gp49a/Lilrb4	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B, member 4	Other
2,581	CD68	CD68 molecule	Plasma Membrane
2,617	ASPRV1	aspartic peptidase, retroviral-like 1	Other
2,744	TIMP1	TIMP metalloproteinase inhibitor 1	Extracellular Space
2,785	Tlr13	toll-like receptor 13	Cytoplasm
2,829	MYH8	myosin, heavy chain 8, skeletal muscle, perinatal	Cytoplasm
2,844	CCL7	chemokine (C-C motif) ligand 7	Extracellular Space
2,986	TNNT2	troponin T type 2 (cardiac)	Cytoplasm
3,035	MYH3	myosin, heavy chain 3, skeletal muscle, embryonic	Cytoplasm
3,072	Ccl2	chemokine (C-C motif) ligand 2	Extracellular Space
3,082	Gp49a/Lilrb4	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B, member 4	Other
3,096	ANKRD1	ankyrin repeat domain 1 (cardiac muscle)	Cytoplasm
3,159	LGALS3	lectin, galactoside-binding, soluble, 3	Extracellular Space
3,341	CCL3L1/CCL3L3	chemokine (C-C motif) ligand 3-like 1	Extracellular Space
3,439	HLA-DRA	major histocompatibility complex, class II, DR alpha	Plasma Membrane
3,537	PRG4	proteoglycan 4	Extracellular Space
3,618	RETNLB	resistin like beta	Extracellular Space
3,736	GNPMB	glycoprotein (transmembrane) nmb	Plasma Membrane
3,935	SPP1	secreted phosphoprotein 1	Extracellular Space
3,947	VSIG4	V-set and immunoglobulin domain containing 4	Plasma Membrane
4,004	LCN2	lipocalin 2	Extracellular Space
4,170	ATP6V0D2	ATPase, H+ transporting, lysosomal 38kDa, V0 subunit d2	Cytoplasm
4,218	SERPINA3	serpin peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 3	Extracellular Space
4,638	MMP8	matrix metalloproteinase 8 (neutrophil collagenase)	Extracellular Space
4,708	Chi3l3/Chi3l4	chitinase 3-like 3	Extracellular Space
4,866	Stfa2/Stfa2l1	stefin A2	Cytoplasm

<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-} vs Dmd^{mdx} 21dias</i>			
Fold Change	Symbol	Entrez Gene Name	Location
-4,193	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
-4,136	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
-4,079	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
-3,999	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
-3,995	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
-3,991	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
-3,939	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
-3,796	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
-3,470	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
-2,691	Pydc3/Pydc4	pyrin domain containing 4	Other
-2,471	Ms4a4b (includes others)	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 4B	Plasma Membrane
-2,185	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
-2,132	PRND	prion protein 2 (dublet)	Plasma Membrane
-2,068	NNAT	neuronatin	Plasma Membrane
-2,056	Retnla	resistin like alpha	Extracellular Space
-1,910	LARGE	like-glycosyltransferase	Cytoplasm
-1,877	IFI44	interferon-induced protein 44	Cytoplasm
-1,826	CXCL9	chemokine (C-X-C motif) ligand 9	Extracellular Space
-1,825	CD28	CD28 molecule	Plasma Membrane
-1,812	SLAMF7	SLAM family member 7	Plasma Membrane
-1,692	CYP4F2	cytochrome P450, family 4, subfamily F, polypeptide 2	Cytoplasm
-1,680	HLA-DQB1	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1	Plasma Membrane
-1,672	A630033H20Rik	RIKEN cDNA A630033H20 gene	Plasma Membrane
-1,651	APLNR	apelin receptor	Plasma Membrane
-1,642	CCR2	chemokine (C-C motif) receptor 2	Plasma Membrane
-1,637	PMP2	peripheral myelin protein 2	Cytoplasm
-1,556	Gbp6 (includes others)	guanylate binding protein 6	Cytoplasm
-1,541	HLA-B	major histocompatibility complex, class I, B	Plasma Membrane
-1,525	Fcrls	Fc receptor-like S, scavenger receptor	Plasma Membrane
-1,506	AW112010	expressed sequence AW112010	Other
-1,503	OAS1	2'-5'-oligoadenylate synthetase 1, 40/46kDa	Cytoplasm
-1,438	HLA-DRB1	major histocompatibility complex, class II, DR beta 1	Plasma Membrane
-1,427	HLA-DMA	major histocompatibility complex, class II, DM alpha	Plasma Membrane
-1,425	Gm4841	predicted gene 4841	Other
-1,403	Gm5431	predicted gene 5431	Other
-1,397	HPSE	heparanase	Plasma Membrane
-1,385	CLEC7A	C-type lectin domain family 7, member A	Plasma Membrane
-1,366	LGI1	leucine-rich, glioma inactivated 1	Plasma Membrane
-1,359	DDX60	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 60	Cytoplasm
-1,348	Klri1	killer cell lectin-like receptor family I member 1	Plasma Membrane
-1,335	TLR1	toll-like receptor 1	Plasma Membrane
-1,332	HERC6	HECT and RLD domain containing E3 ubiquitin protein ligase family member 6	Cytoplasm
-1,330	GIMAP4	GTPase, IMAP family member 4	Nucleus
-1,318	MSS51	MSS51 mitochondrial translational activator	Other
-1,296	KLRD1	killer cell lectin-like receptor subfamily D, member 1	Plasma Membrane
-1,282	LY9	lymphocyte antigen 9	Plasma Membrane
-1,281	5330426P16Rik	RIKEN cDNA 5330426P16 gene	Other
-1,264	Zfp125	zinc finger protein 125	Nucleus
-1,258	GPR114	G protein-coupled receptor 114	Plasma Membrane
-1,226	9930111J21Rik2	RIKEN cDNA 9930111J21 gene 2	Other
-1,226	CLEC2D	C-type lectin domain family 2, member D	Plasma Membrane
-1,217	TNFSF10	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 10	Extracellular Space
-1,194	PTPLAD2	protein tyrosine phosphatase-like A domain containing 2	Other
-1,190	SCIMP	SLP adaptor and CSK interacting membrane protein	Plasma Membrane
-1,186	GBP4	guanylate binding protein 4	Cytoplasm
-1,185	H2-T22	histocompatibility 2, T region locus 22	Other

-1,166	CCR3	chemokine (C-C motif) receptor 3	Plasma Membrane
-1,160	MS4A7	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 7	Other
-1,154	NABP1	nucleic acid binding protein 1	Nucleus
-1,142	Klrb1c (includes others)	killer cell lectin-like receptor subfamily B member 1C	Plasma Membrane
-1,136	Abcg3	ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 3	Plasma Membrane
-1,126	CD48	CD48 molecule	Plasma Membrane
-1,121	CYSLTR1	cysteinyl leukotriene receptor 1	Plasma Membrane
-1,088	CD47	CD47 molecule	Plasma Membrane
-1,081	ST8SIA4	ST8 alpha-N-acetyl-neuraminide alpha-2,8-sialyltransferase 4	Cytoplasm
-1,079	Zfp932 (includes others)	zinc finger protein 932	Nucleus
-1,069	MS4A14	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 14	Other
-1,066	C5orf28	chromosome 5 open reading frame 28	Other
-1,057	GBP5	guanylate binding protein 5	Plasma Membrane
-1,056	B3GNT3	UDP-GlcNAc:betaGal beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase 3	Cytoplasm
-1,050	MARCKS	myristoylated alanine-rich protein kinase C substrate	Plasma Membrane
-1,049	C1orf54	chromosome 1 open reading frame 54	Other
-1,031	RNPEP	arginyl aminopeptidase (aminopeptidase B)	Cytoplasm
-1,013	TMEM229B	transmembrane protein 229B	Other
-0,98	Snora34	small nucleolar RNA, H/ACA box 34	Other
-0,979	CLEC11A	C-type lectin domain family 11, member A	Extracellular Space
-0,973	DTX3L	deltex 3-like (Drosophila)	Cytoplasm
-0,963	Gm10808	predicted gene 10808	Other
-0,923	HEXB	hexosaminidase B (beta polypeptide)	Cytoplasm
-0,923	MYCT1	myc target 1	Nucleus
-0,904	ZNF14	zinc finger protein 14	Nucleus
-0,9	Clec2e	C-type lectin domain family 2, member e	Plasma Membrane
-0,892	TLR3	toll-like receptor 3	Plasma Membrane
-0,883	CA8	carbonic anhydrase VIII	Cytoplasm
-0,879	XCR1	chemokine (C motif) receptor 1	Plasma Membrane
-0,877	PLEKHA2	pleckstrin homology domain containing, family A (phosphoinositide binding specific) member 2	Cytoplasm
-0,865	PCP4L1	Purkinje cell protein 4 like 1	Other
-0,854	Rny3	RNA, Y3 small cytoplasmic (associated with Ro protein)	Other
-0,853	TET1	tet methylcytosine dioxygenase 1	Nucleus
-0,845	NMI	N-myc (and STAT) interactor	Cytoplasm
-0,839	TAF1D	TATA box binding protein (TBP)-associated factor, RNA polymerase I, D, 41kDa	Nucleus
-0,83	AS3MT	arsenic (+3 oxidation state) methyltransferase	Cytoplasm
-0,827	SIAE	sialic acid acetyltransferase	Cytoplasm
-0,815	CPXM1	carboxypeptidase X (M14 family), member 1	Extracellular Space
-0,806	GREM2	gremlin 2, DAN family BMP antagonist	Extracellular Space
-0,789	Tlr11	toll-like receptor 11	Plasma Membrane
-0,78	SLC46A3	solute carrier family 46, member 3	Extracellular Space
-0,777	MINA	MYC induced nuclear antigen	Nucleus
-0,765	NAALAD2	N-acetylated alpha-linked acidic dipeptidase 2	Plasma Membrane
-0,758	SFT2D1	SFT2 domain containing 1	Other
-0,755	IL15	interleukin 15	Extracellular Space
-0,752	HEXA	hexosaminidase A (alpha polypeptide)	Cytoplasm
-0,749	SLC9A7	solute carrier family 9, subfamily A (NHE7, cation proton antiporter 7), member 7	Cytoplasm
-0,747	GADD45GIP1	growth arrest and DNA-damage-inducible, gamma interacting protein 1	Nucleus
-0,745	Lipo1/Lipo4	lipase, member O1	Other
-0,743	C1QL3	complement component 1, q subcomponent-like 3	Extracellular Space
-0,739	ARHGAP18	Rho GTPase activating protein 18	Cytoplasm
-0,736	UBE2V2	ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2	Cytoplasm
-0,735	BCL6B	B-cell CLL/lymphoma 6, member B	Nucleus
-0,73	9030619P08Rik	RIKEN cDNA 9030619P08 gene	Other
-0,723	BACE2	beta-site APP-cleaving enzyme 2	Cytoplasm
-0,703	REPS2	RALBP1 associated Eps domain containing 2	Cytoplasm
-0,691	SFT2D1	SFT2 domain containing 1	Other
-0,691	SFT2D1	SFT2 domain containing 1	Other
-0,684	HAUS8	HAUS augmin-like complex, subunit 8	Cytoplasm
-0,682	HPS5	Hermansky-Pudlak syndrome 5	Cytoplasm
-0,656	RWDD2B	RWD domain containing 2B	Other
-0,639	1110001A16Rik	RIKEN cDNA 1110001A16 gene	Other
-0,61	KLHL28	kelch-like family member 28	Other
-0,604	AVEN	apoptosis, caspase activation inhibitor	Nucleus
-0,58	SPPL2A	signal peptide peptidase like 2A	Plasma Membrane
-0,579	DERL2	derlin 2	Cytoplasm

-0,561	SLC35A1	solute carrier family 35 (CMP-sialic acid transporter), member A1	Cytoplasm
-0,474	C9orf64	chromosome 9 open reading frame 64	Other
0,779	Gm10548	ribosomal protein L29 pseudogene	Other
0,853	OCEL1	occludin/ELL domain containing 1	Other
0,957	8430429K09Rik	RIKEN cDNA 8430429K09 gene	Other
1,445	Snord53	small nucleolar RNA, C/D box 53	Other
1,469	CSRP3	cysteine and glycine-rich protein 3 (cardiac LIM protein)	Nucleus
1,785	VSIG4	V-set and immunoglobulin domain containing 4	Plasma Membrane

<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-} vs Large^{myd-/-} 21 dias</i>			
Fold Change	Symbol	Entrez Gene Name	Location
-1,948	HLA-DRA	major histocompatibility complex, class II, DR alpha	Plasma Membrane
-1,667	PMP2	peripheral myelin protein 2	Cytoplasm
-1,515	MSS51	MSS51 mitochondrial translational activator	Other
-1,483	PTTG1	pituitary tumor-transforming 1	Nucleus
-1,349	Tpsab1	tryptase alpha/beta 1	Nucleus
-1,238	GLO1	glyoxalase I	Cytoplasm
-1,185	Gsta4	glutathione S-transferase, alpha 4	Cytoplasm
-1,183	GLO1	glyoxalase I	Cytoplasm
0,983	APOC2	apolipoprotein C-II	Extracellular Space
1,175	Olfr1372-ps1	olfactory receptor 1372, pseudogene 1	Other
1,243	NXPE4	neurexophilin and PC-esterase domain family, member 4	Extracellular Space
1,290	C10orf11	chromosome 10 open reading frame 11	Other
1,300	PRG4	proteoglycan 4	Extracellular Space
1,345	Snord53	small nucleolar RNA, C/D box 53	Other
1,578	GAS5	growth arrest-specific 5 (non-protein coding)	Other
3,864	Chi3l3/Chi3l4	chitinase 3-like 3	Extracellular Space

Dmd^{mdx} vs C57BL 3 meses

Fold Change	Symbol	Entrez Gene Name	Location
1,274	Sirpb1a (includes others)	signal-regulatory protein beta 1A	Plasma Membrane
1,343	Lyz1/Lyz2	lysozyme 2	Cytoplasm
1,383	IL13RA1	interleukin 13 receptor, alpha 1	Plasma Membrane
1,391	SLC25A24	solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; phosphate carrier), member 24	Cytoplasm
1,398	HGF	hepatocyte growth factor (hepapoietin A; scatter factor)	Extracellular Space
1,402	SIGLEC1	sialic acid binding Ig-like lectin 1, sialoadhesin	Plasma Membrane
1,402	SIRPA	signal-regulatory protein alpha	Plasma Membrane
1,411	MYO5A	myosin VA (heavy chain 12, myoxin)	Cytoplasm
1,412	APOE	apolipoprotein E	Extracellular Space
1,414	Oasl2	2'-5' oligoadenylate synthetase-like 2	Other
1,416	CD300LD	CD300 molecule-like family member d	Plasma Membrane
1,417	RUNX1	runt-related transcription factor 1	Nucleus
1,423	CSF1R	colony stimulating factor 1 receptor	Plasma Membrane
1,427	IGSF6	immunoglobulin superfamily, member 6	Plasma Membrane
1,436	CLEC4A	C-type lectin domain family 4, member A	Plasma Membrane
1,438	OAS1	2'-5'-oligoadenylate synthetase 1, 40/46kDa	Cytoplasm
1,443	ITGAM	integrin, alpha M (complement component 3 receptor 3 subunit)	Plasma Membrane
1,445	ALCAM	activated leukocyte cell adhesion molecule	Plasma Membrane
1,445	GRN	granulin	Extracellular Space
1,448	LPXN	leupaxin	Cytoplasm
1,450	LOX	lysyl oxidase	Extracellular Space
1,452	CSTB	cystatin B (stefin B)	Cytoplasm
1,454	ABCG1	ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 1	Plasma Membrane
1,456	Lyz1/Lyz2	lysozyme 2	Cytoplasm
1,457	CD200R1	CD200 receptor 1	Plasma Membrane
1,460	Gm5150	predicted gene 5150	Other
1,463	MYOF	myoferlin	Nucleus
1,465	B4GALT6	UDP-Gal:betaGlcNAc beta 1,4- galactosyltransferase, polypeptide 6	Cytoplasm
1,468	HLA-DRB1	major histocompatibility complex, class II, DR beta 1	Plasma Membrane
1,470	CYBA	cytochrome b-245, alpha polypeptide	Cytoplasm
1,471	C5AR1	complement component 5a receptor 1	Plasma Membrane
1,477	CERS6	ceramide synthase 6	Nucleus
1,483	UNC93B1	unc-93 homolog B1 (C, elegans)	Cytoplasm
1,485	PLXNC1	plexin C1	Plasma Membrane
1,489	CYTH4	cytohesin 4	Cytoplasm
1,490	CD74	CD74 molecule, major histocompatibility complex, class II invariant chain	Plasma Membrane
1,493	MYO1F	myosin IF	Cytoplasm
1,495	RGS18	regulator of G-protein signaling 18	Cytoplasm
1,496	P2RX4	purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 4	Plasma Membrane
1,501	LAPTM5	lysosomal protein transmembrane 5	Plasma Membrane
1,502	FABP5	fatty acid binding protein 5 (psoriasis-associated)	Cytoplasm
1,503	S100A4	S100 calcium binding protein A4	Cytoplasm
1,504	RASGEF1B	RasGEF domain family, member 1B	Other
1,505	SP1	spleen focus forming virus (SFFV) proviral integration oncogene	Nucleus
1,509	SLC37A2	solute carrier family 37 (glucose-6-phosphate transporter), member 2	Other
1,512	FABP5	fatty acid binding protein 5 (psoriasis-associated)	Cytoplasm
1,517	TMEM106A	transmembrane protein 106A	Other
1,527	5430435G22Rik	RIKEN cDNA 5430435G22 gene	Cytoplasm
1,534	DOCK2	dedicator of cytokinesis 2	Cytoplasm
1,536	CYP4F2	cytochrome P450, family 4, subfamily F, polypeptide 2	Cytoplasm
1,536	FYB	FYN binding protein	Nucleus
1,547	ITGB2	integrin, beta 2 (complement component 3 receptor 3 and 4 subunit)	Plasma Membrane
1,548	HEXB	hexosaminidase B (beta polypeptide)	Cytoplasm
1,555	HLA-DQB1	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1	Plasma Membrane
1,562	RGS10	regulator of G-protein signaling 10	Cytoplasm
1,563	C1QA	complement component 1, q subcomponent, A chain	Extracellular Space
1,563	MRC1	mannose receptor, C type 1	Plasma Membrane
1,563	PEG3	paternally expressed 3	Nucleus
1,564	Gm5431	predicted gene 5431	Other
1,566	P2RY6	pyrimidinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 6	Plasma Membrane
1,570	SLC38A1	solute carrier family 38, member 1	Plasma Membrane
1,572	CAPN6	calpain 6	Cytoplasm
1,578	Pydc3/Pydc4	pyrin domain containing 4	Other
1,582	IL10RA	interleukin 10 receptor, alpha	Plasma Membrane

1,582	LPCAT2	lysophosphatidylcholine acyltransferase 2	Cytoplasm
1,588	CD48	CD48 molecule	Plasma Membrane
1,596	Tmsb4x (includes others)	thymosin, beta 4, X chromosome	Cytoplasm
1,597	CCR3	chemokine (C-C motif) receptor 3	Plasma Membrane
1,600	PLEK	pleckstrin	Cytoplasm
1,600	Tmsb4x (includes others)	thymosin, beta 4, X chromosome	Cytoplasm
1,601	LY9	lymphocyte antigen 9	Plasma Membrane
1,622	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
1,629	RGS1	regulator of G-protein signaling 1	Plasma Membrane
1,648	CYBB	cytochrome b-245, beta polypeptide	Cytoplasm
1,653	DPEP2	dipeptidase 2	Plasma Membrane
1,655	Nt5dc2	5'-nucleotidase domain containing 2	Other
1,656	Clec4a1	C-type lectin domain family 4, member a1	Other
1,661	HPGDS	hematopoietic prostaglandin D synthase	Cytoplasm
1,662	IFI30	interferon, gamma-inducible protein 30	Cytoplasm
1,667	CLEC12A	C-type lectin domain family 12, member A	Plasma Membrane
1,671	HLA-DQA1	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1	Plasma Membrane
1,688	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
1,695	PTPRC	protein tyrosine phosphatase, receptor type, C	Plasma Membrane
1,709	LCP1	lymphocyte cytosolic protein 1 (L-plastin)	Cytoplasm
1,718	LGMN	legumain	Cytoplasm
1,719	Bcl2a1c	B cell leukemia/lymphoma 2 related protein A1c	Other
1,725	Cd52	CD52 antigen	Other
1,731	TLR1	toll-like receptor 1	Plasma Membrane
1,738	FCGR2A	Fc fragment of IgG, low affinity IIa, receptor (CD32)	Plasma Membrane
1,739	ITGAX	integrin, alpha X (complement component 3 receptor 4 subunit)	Plasma Membrane
1,741	DCLK1	doublecortin-like kinase 1	Other
1,742	LAT2	linker for activation of T cells family, member 2	Plasma Membrane
1,743	CTSH	cathepsin H	Cytoplasm
1,745	CD300C	CD300c molecule	Plasma Membrane
1,749	Gp49a/Lilrb4	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B, member 4	Other
1,753	HPSE	heparanase	Plasma Membrane
1,757	Milr1	mast cell immunoglobulin like receptor 1	Plasma Membrane
1,757	PLD4	phospholipase D family, member 4	Extracellular Space
1,761	STAP1	signal transducing adaptor family member 1	Cytoplasm
1,762	C1QC	complement component 1, q subcomponent, C chain	Extracellular Space
1,765	CCDC141	coiled-coil domain containing 141	Other
1,768	FCGR2B	Fc fragment of IgG, low affinity IIb, receptor (CD32)	Plasma Membrane
1,772	SPP1	secreted phosphoprotein 1	Extracellular Space
1,777	CXCL16	chemokine (C-X-C motif) ligand 16	Extracellular Space
1,779	TYROBP	TYRO protein tyrosine kinase binding protein	Plasma Membrane
1,789	TUBB2B	tubulin, beta 2B class IIb	Cytoplasm
1,790	TREM2	triggering receptor expressed on myeloid cells 2	Plasma Membrane
1,796	FCGR1A	Fc fragment of IgG, high affinity Ia, receptor (CD64)	Plasma Membrane
1,803	BCL2A1	BCL2-related protein A1	Cytoplasm
1,812	SLC11A1	solute carrier family 11 (proton-coupled divalent metal ion transporter), member 1	Plasma Membrane
1,822	GLIPR1	GLI pathogenesis-related 1	Extracellular Space
1,825	GPR65	G protein-coupled receptor 65	Plasma Membrane
1,826	SLAMF7	SLAM family member 7	Plasma Membrane
1,831	BCL2A1	BCL2-related protein A1	Cytoplasm
1,834	IGF2	insulin-like growth factor 2 (somatomedin A)	Extracellular Space
1,845	NCKAP1L	NCK-associated protein 1-like	Plasma Membrane
1,846	ADAM8	ADAM metalloproteinase domain 8	Plasma Membrane
1,858	TUBB6	tubulin, beta 6 class V	Cytoplasm
1,861	LIPA	lipase A, lysosomal acid, cholesterol esterase	Cytoplasm
1,869	FCER1G	Fc fragment of IgE, high affinity I, receptor for; gamma polypeptide	Plasma Membrane
1,920	BCL2A1	BCL2-related protein A1	Cytoplasm
1,933	SOAT1	sterol O-acyltransferase 1	Cytoplasm
1,935	CHRNA7	cholinergic receptor, nicotinic, gamma (muscle)	Plasma Membrane
1,938	CLEC7A	C-type lectin domain family 7, member A	Plasma Membrane
1,942	EMB	embigin	Plasma Membrane
1,944	Ccl9	chemokine (C-C motif) ligand 9	Extracellular Space
1,955	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
1,956	MMP3	matrix metalloproteinase 3 (stromelysin 1, progelatinase)	Extracellular Space
1,960	ANKRD1	ankyrin repeat domain 1 (cardiac muscle)	Cytoplasm

2,520	CCL3L1/CCL3L3	chemokine (C-C motif) ligand 3-like 1	Extracellular Space
2,554	C1QTNF3	C1q and tumor necrosis factor related protein 3	Extracellular Space
2,576	GAL	galanin/GMAP prepropeptide	Extracellular Space
2,627	TMEM8C	transmembrane protein 8C	Plasma Membrane
2,659	SERPINA3	serpin peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 3	Extracellular Space
2,667	LGALS3	lectin, galactoside-binding, soluble, 3	Extracellular Space
2,718	PRG4	proteoglycan 4	Extracellular Space
2,723	TNNT2	troponin T type 2 (cardiac)	Cytoplasm
2,813	CTSS	cathepsin S	Cytoplasm
2,874	Ccl8	chemokine (C-C motif) ligand 8	Extracellular Space
2,896	Ccl2	chemokine (C-C motif) ligand 2	Extracellular Space
2,968	AKR1E2	aldo-keto reductase family 1, member E2	Cytoplasm
3,002	MMP12	matrix metalloproteinase 12 (macrophage elastase)	Extracellular Space
3,018	MS4A7	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 7	Other
3,139	C3AR1	complement component 3a receptor 1	Plasma Membrane
3,196	MS4A6A	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6A	Other
3,232	MYH3	myosin, heavy chain 3, skeletal muscle, embryonic	Cytoplasm
3,264	GPNMB	glycoprotein (transmembrane) nmb	Plasma Membrane
3,267	CCL7	chemokine (C-C motif) ligand 7	Extracellular Space

Large^{myd-/-} vs C57BL 3 meses			
Fold Change	Symbol	Entrez Gene Name	Location
-4,312	Ngp	neutrophilic granule protein	Extracellular Space
-3,853	Ahsp	alpha hemoglobin stabilizing protein	Cytoplasm
-3,711	S100A8	S100 calcium binding protein A8	Cytoplasm
-3,586	IBSP	integrin-binding sialoprotein	Extracellular Space
-3,527	Ly6a (includes others)	lymphocyte antigen 6 complex, locus A	Plasma Membrane
-3,342	S100A9	S100 calcium binding protein A9	Cytoplasm
-3,310	Ly6a (includes others)	lymphocyte antigen 6 complex, locus A	Plasma Membrane
-3,297	CA1	carbonic anhydrase I	Cytoplasm
-3,267	LTF	lactotransferrin	Extracellular Space
-3,186	Chi3l3/Chi3l4	chitinase 3-like 3	Extracellular Space
-3,026	Gypa	glycophorin A	Plasma Membrane
-2,957	LCN2	lipocalin 2	Extracellular Space
-2,927	PPBP	pro-platelet basic protein (chemokine (C-X-C motif) ligand 7)	Extracellular Space
-2,797	MPO	myeloperoxidase	Cytoplasm
-2,764	Bglap (includes others)	bone gamma carboxyglutamate protein	Extracellular Space
-2,713	CAMP	cathelicidin antimicrobial peptide	Cytoplasm
-2,662	SLC4A1	solute carrier family 4 (anion exchanger), member 1	Plasma Membrane
-2,080	LARGE	like-glycosyltransferase	Cytoplasm
-2,054	OSTN	osteocrin	Extracellular Space
-1,876	Zfp125	zinc finger protein 125	Nucleus
-1,871	MSTN	myostatin	Extracellular Space
-1,776	PADI2	peptidyl arginine deiminase, type II	Cytoplasm
-1,699	SLC38A3	solute carrier family 38, member 3	Plasma Membrane
-1,680	NOS1	nitric oxide synthase 1 (neuronal)	Cytoplasm
-1,673	NXPE4	neurexophilin and PC-esterase domain family, member 4	Extracellular Space
-1,493	HS3ST5	heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 5	Cytoplasm
1,170	GLIPR1	GLI pathogenesis-related 1	Extracellular Space
1,238	CTSZ	cathepsin Z	Cytoplasm
1,278	RENBP	renin binding protein	Other
1,284	ANGPTL1	angiopoietin-like 1	Plasma Membrane
1,294	CLIC1	chloride intracellular channel 1	Nucleus
1,303	LAT2	linker for activation of T cells family, member 2	Plasma Membrane
1,307	FABP5	fatty acid binding protein 5 (psoriasis-associated)	Cytoplasm
1,308	STAB1	stabilin 1	Plasma Membrane
1,309	HLA-DQA1	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1	Plasma Membrane
1,315	PLTP	phospholipid transfer protein	Extracellular Space
1,317	CD180	CD180 molecule	Plasma Membrane
1,318	CFB	complement factor B	Extracellular Space
1,329	5430435G22Rik	RIKEN cDNA 5430435G22 gene	Cytoplasm
1,336	THBS4	thrombospondin 4	Extracellular Space
1,338	TMEM106A	transmembrane protein 106A	Other
1,352	FABP5	fatty acid binding protein 5 (psoriasis-associated)	Cytoplasm
1,353	NPNT	nephronectin	Plasma Membrane
1,355	MYOF	myoferlin	Nucleus
1,367	ANXA4	annexin A4	Plasma Membrane
1,369	LAPTM5	lysosomal protein transmembrane 5	Plasma Membrane
1,369	PTAFR	platelet-activating factor receptor	Plasma Membrane
1,385	AIF1L	allograft inflammatory factor 1-like	Plasma Membrane
1,385	Lyz1/Lyz2	lysozyme 2	Cytoplasm
1,391	Ms4a6c	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6C	Other
1,401	COL14A1	collagen, type XIV, alpha 1	Extracellular Space
1,405	COL6A3	collagen, type VI, alpha 3	Extracellular Space
1,408	TUBB2B	tubulin, beta 2B class IIb	Cytoplasm
1,414	Tmsb4x (includes others)	thymosin, beta 4, X chromosome	Cytoplasm
1,419	COL3A1	collagen, type III, alpha 1	Extracellular Space
1,419	IL13RA1	interleukin 13 receptor, alpha 1	Plasma Membrane
1,422	COL8A1	collagen, type VIII, alpha 1	Extracellular Space
1,426	MAP1B	microtubule-associated protein 1B	Cytoplasm
1,429	Tmsb4x (includes others)	thymosin, beta 4, X chromosome	Cytoplasm
1,432	BCL2A1	BCL2-related protein A1	Cytoplasm
1,436	SOAT1	sterol O-acyltransferase 1	Cytoplasm
1,437	HPGDS	hematopoietic prostaglandin D synthase	Cytoplasm
1,442	S100A4	S100 calcium binding protein A4	Cytoplasm
1,452	P2RX4	purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 4	Plasma Membrane

1,453	CCDC141	coiled-coil domain containing 141	Other
1,454	CD300C	CD300c molecule	Plasma Membrane
1,457	COL6A5	collagen, type VI, alpha 5	Extracellular Space
1,477	P2RY6	pyrimidinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 6	Plasma Membrane
1,490	BCL2A1	BCL2-related protein A1	Cytoplasm
1,495	PDPN	podoplanin	Plasma Membrane
1,512	APOE	apolipoprotein E	Extracellular Space
1,518	CD74	CD74 molecule, major histocompatibility complex, class II invariant chain	Plasma Membrane
1,523	IFI30	interferon, gamma-inducible protein 30	Cytoplasm
1,527	NCAM1	neural cell adhesion molecule 1	Plasma Membrane
1,532	SLAMF7	SLAM family member 7	Plasma Membrane
1,539	DCLK1	doublecortin-like kinase 1	Other
1,541	ADAM8	ADAM metalloproteinase domain 8	Plasma Membrane
1,541	IL7R	interleukin 7 receptor	Plasma Membrane
1,542	AKR1B10	aldo-keto reductase family 1, member B10 (aldose reductase)	Cytoplasm
1,542	CD84	CD84 molecule	Plasma Membrane
1,542	MS4A14	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 14	Other
1,556	ZDBF2	zinc finger, DBF-type containing 2	Other
1,559	Gp49a/Lilrb4	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B, member 4	Other
1,572	CAPN6	calpain 6	Cytoplasm
1,582	MSR1	macrophage scavenger receptor 1	Plasma Membrane
1,591	SFRP1	secreted frizzled-related protein 1	Plasma Membrane
1,594	CILP	cartilage intermediate layer protein, nucleotide pyrophosphohydrolase	Extracellular Space
1,599	RGS1	regulator of G-protein signaling 1	Plasma Membrane
1,608	CXCL16	chemokine (C-X-C motif) ligand 16	Extracellular Space
1,625	LGMN	legumain	Cytoplasm
1,626	VSIG4	V-set and immunoglobulin domain containing 4	Plasma Membrane
1,633	ANPEP	alanine (membrane) aminopeptidase	Plasma Membrane
1,636	A930003A15Rik	RIKEN cDNA A930003A15 gene	Other
1,638	FGL2	fibrinogen-like 2	Extracellular Space
1,651	MYOG	myogenin (myogenic factor 4)	Nucleus
1,655	Ccl9	chemokine (C-C motif) ligand 9	Extracellular Space
1,658	CHRNA1	cholinergic receptor, nicotinic, gamma (muscle)	Plasma Membrane
1,662	PRUNE2	prune homolog 2 (Drosophila)	Other
1,663	PEG3	paternally expressed 3	Nucleus
1,668	CHRNA1	cholinergic receptor, nicotinic, alpha 1 (muscle)	Plasma Membrane
1,673	Nxpe5	neurexophilin and PC-esterase domain family, member 5	Other
1,676	C1QA	complement component 1, q subcomponent, A chain	Extracellular Space
1,677	DPEP2	dipeptidase 2	Plasma Membrane
1,727	SLC11A1	solute carrier family 11 (proton-coupled divalent metal ion transporter), member 1	Plasma Membrane
1,728	C1QC	complement component 1, q subcomponent, C chain	Extracellular Space
1,763	MFAP4	microfibrillar-associated protein 4	Extracellular Space
1,768	CCDC141	coiled-coil domain containing 141	Other
1,775	POSTN	periostin, osteoblast specific factor	Extracellular Space
1,779	Wfdc17	WAP four-disulfide core domain 17	Other
1,786	Clec4a3	C-type lectin domain family 4, member a3	Other
1,788	LIPA	lipase A, lysosomal acid, cholesterol esterase	Cytoplasm
1,792	PRUNE2	prune homolog 2 (Drosophila)	Other
1,798	MS4A4A	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 4A	Other
1,810	C1QB	complement component 1, q subcomponent, B chain	Extracellular Space
1,812	EMR1	egf-like module containing, mucin-like, hormone receptor-like 1	Plasma Membrane
1,813	CLEC7A	C-type lectin domain family 7, member A	Plasma Membrane
1,816	Tlr13	toll-like receptor 13	Cytoplasm
1,834	Ccl6	chemokine (C-C motif) ligand 6	Extracellular Space
1,849	MT1E	metallothionein 1E	Cytoplasm
1,854	CDKN1A	cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (p21, Cip1)	Nucleus
1,865	APOBEC1	apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide 1	Cytoplasm
1,869	CCL3L1/CCL3L3	chemokine (C-C motif) ligand 3-like 1	Extracellular Space
1,881	CCDC141	coiled-coil domain containing 141	Other
1,891	TUBB6	tubulin, beta 6 class V	Cytoplasm
1,892	TREM2	triggering receptor expressed on myeloid cells 2	Plasma Membrane
1,969	RRAD	Ras-related associated with diabetes	Cytoplasm
1,980	LY86	lymphocyte antigen 86	Plasma Membrane
2,011	CCR5	chemokine (C-C motif) receptor 5 (gene/pseudogene)	Plasma Membrane
2,011	CCR5	chemokine (C-C motif) receptor 5 (gene/pseudogene)	Plasma Membrane
2,017	MYL4	myosin, light chain 4, alkali; atrial, embryonic	Cytoplasm
2,041	FBLN7	fibulin 7	Extracellular Space
2,055	Ccl2	chemokine (C-C motif) ligand 2	Extracellular Space
2,059	ITGAX	integrin, alpha X (complement component 3 receptor 4 subunit)	Plasma Membrane

Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-} vs C57BL 3 meses

Fold Change	Symbol	Entrez Gene Name	Location
-5,502	Ngp	neutrophilic granule protein	Extracellular Space
-4,207	Ahsp	alpha hemoglobin stabilizing protein	Cytoplasm
-3,898	S100A8	S100 calcium binding protein A8	Cytoplasm
-3,808	IBSP	integrin-binding sialoprotein	Extracellular Space
-3,627	Gypa	glycophorin A	Plasma Membrane
-3,601	LTF	lactotransferrin	Extracellular Space
-3,349	Ly6a (includes others)	lymphocyte antigen 6 complex, locus A	Plasma Membrane
-3,324	LCN2	lipocalin 2	Extracellular Space
-3,262	CA1	carbonic anhydrase I	Cytoplasm
-3,235	S100A9	S100 calcium binding protein A9	Cytoplasm
-3,208	MPO	myeloperoxidase	Cytoplasm
-3,136	OSTN	osteocrin	Extracellular Space
-3,034	PPBP	pro-platelet basic protein (chemokine (C-X-C motif) ligand 7)	Extracellular Space
-2,868	Bglap (includes others)	bone gamma carboxyglutamate protein	Extracellular Space
-2,840	SLC4A1	solute carrier family 4 (anion exchanger), member 1	Plasma Membrane
-2,756	CAMP	cathelicidin antimicrobial peptide	Cytoplasm
-2,455	NOS1	nitric oxide synthase 1 (neuronal)	Cytoplasm
-2,417	AMD1	adenosylmethionine decarboxylase 1	Cytoplasm
-2,397	AMD1	adenosylmethionine decarboxylase 1	Cytoplasm
-2,390	AMD1	adenosylmethionine decarboxylase 1	Cytoplasm
-2,382	AMD1	adenosylmethionine decarboxylase 1	Cytoplasm
-2,284	PADI2	peptidyl arginine deiminase, type II	Cytoplasm
-2,239	NETO2	neuropilin (NRP) and tolloid (TLL)-like 2	Other
-2,226	MSTN	myostatin	Extracellular Space
-2,223	ALAS2	aminolevulinate, delta-, synthase 2	Cytoplasm
-2,169	AMD1	adenosylmethionine decarboxylase 1	Cytoplasm
-2,117	PTTG1	pituitary tumor-transforming 1	Nucleus
-2,077	LARGE	like-glycosyltransferase	Cytoplasm
-1,943	HS3ST5	heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 5	Cytoplasm
-1,925	PDE4D	phosphodiesterase 4D, cAMP-specific	Cytoplasm
-1,900	SLC38A3	solute carrier family 38, member 3	Plasma Membrane
-1,898	BDH1	3-hydroxybutyrate dehydrogenase, type 1	Cytoplasm
-1,856	ASB2	ankyrin repeat and SOCS box containing 2	Nucleus
-1,850	PPP1R1A	protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 1A	Cytoplasm
-1,834	GDAP1	ganglioside induced differentiation associated protein 1	Cytoplasm
-1,782	KLHL38	kelch-like family member 38	Other
-1,679	ASB4	ankyrin repeat and SOCS box containing 4	Nucleus
-1,660	LRRC14B	leucine rich repeat containing 14B	Other
-1,620	PTPN3	protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 3	Cytoplasm
1,309	SOX11	SRY (sex determining region Y)-box 11	Nucleus
1,313	VAT1	vesicle amine transport 1	Plasma Membrane
1,317	DSE	dermatan sulfate epimerase	Cytoplasm
1,326	GAMT	guanidinoacetate N-methyltransferase	Cytoplasm
1,327	FYB	FYN binding protein	Nucleus
1,339	TMEM176B	transmembrane protein 176B	Other
1,353	RASGEF1B	RasGEF domain family, member 1B	Other
1,357	SPI1	spleen focus forming virus (SFFV) proviral integration oncogene	Nucleus
1,365	LAYN	layilin	Plasma Membrane
1,377	CD302	CD302 molecule	Plasma Membrane
1,377	GLA	galactosidase, alpha	Cytoplasm
1,378	IGSF10	immunoglobulin superfamily, member 10	Other
1,378	PEG3	paternally expressed 3	Nucleus
1,378	Zim1	zinc finger, imprinted 1	Nucleus
1,379	CLCN5	chloride channel, voltage-sensitive 5	Plasma Membrane
1,380	GUSB	glucuronidase, beta	Cytoplasm
1,386	CCDC80	coiled-coil domain containing 80	Nucleus
1,387	SRPX	sushi-repeat containing protein, X-linked	Cytoplasm
1,390	CASP1	caspase 1, apoptosis-related cysteine peptidase	Cytoplasm
1,393	LILRB3	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B (with TM and ITIM domains), member 3	Plasma Membrane
1,395	H19	H19, imprinted maternally expressed transcript (non-protein coding)	Cytoplasm
1,397	BMPER	BMP binding endothelial regulator	Extracellular Space
1,400	MMP14	matrix metalloproteinase 14 (membrane-inserted)	Extracellular Space
1,401	LITAF	lipopolysaccharide-induced TNF factor	Nucleus
1,405	CSF2RB	colony stimulating factor 2 receptor, beta, low-affinity (granulocyte-macrophage)	Plasma Membrane

1,410	Nt5dc2	5'-nucleotidase domain containing 2	Other
1,414	CERS6	ceramide synthase 6	Nucleus
1,417	PLXNB2	plexin B2	Plasma Membrane
1,418	CCDC109B	coiled-coil domain containing 109B	Cytoplasm
1,423	RAB31	RAB31, member RAS oncogene family	Cytoplasm
1,424	CYBB	cytochrome b-245, beta polypeptide	Cytoplasm
1,433	LCP1	lymphocyte cytosolic protein 1 (L-plastin)	Cytoplasm
1,434	VASH2	vasohibin 2	Cytoplasm
1,437	TUBB2B	tubulin, beta 2B class IIb	Cytoplasm
1,443	MAN2B1	mannosidase, alpha, class 2B, member 1	Cytoplasm
1,445	LUM	lumican	Extracellular Space
1,446	MYO1F	myosin IF	Cytoplasm
1,447	COL6A5	collagen, type VI, alpha 5	Extracellular Space
1,449	RASSF4	Ras association (RalGDS/AF-6) domain family member 4	Other
1,453	PIANP	PILR alpha associated neural protein	Other
1,456	ANGPTL1	angiopoietin-like 1	Plasma Membrane
1,456	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
1,457	CXCL9	chemokine (C-X-C motif) ligand 9	Extracellular Space
1,457	FOLR2	folate receptor 2 (fetal)	Plasma Membrane
1,462	CLIC1	chloride intracellular channel 1	Nucleus
1,473	PLAGL1	pleiomorphic adenoma gene-like 1	Nucleus
1,474	CFB	complement factor B	Extracellular Space
1,476	PROS1	protein S (alpha)	Extracellular Space
1,478	LPXN	leupaxin	Cytoplasm
1,479	B4GALT6	UDP-Gal:betaGlcNAc beta 1,4- galactosyltransferase, polypeptide 6	Cytoplasm
1,479	Cd52	CD52 antigen	Other
1,484	LAPTM5	lysosomal protein transmembrane 5	Plasma Membrane
1,490	MFAP2	microfibrillar-associated protein 2	Extracellular Space
1,505	TBXAS1	thromboxane A synthase 1 (platelet)	Plasma Membrane
1,511	CTSZ	cathepsin Z	Cytoplasm
1,512	SLC15A3	solute carrier family 15 (oligopeptide transporter), member 3	Cytoplasm
1,516	CD300LD	CD300 molecule-like family member d	Plasma Membrane
1,517	GATM	glycine amidinotransferase (L-arginine:glycine amidinotransferase)	Cytoplasm
1,520	LACC1	laccase (multicopper oxidoreductase) domain containing 1	Other
1,523	CD48	CD48 molecule	Plasma Membrane
1,523	SLC25A24	solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; phosphate carrier), member 24	Cytoplasm
1,526	CD300LD	CD300 molecule-like family member d	Plasma Membrane
1,527	SLC9A9	solute carrier family 9, subfamily A (NHE9, cation proton antiporter 9), member 9	Cytoplasm
1,529	SGPL1	sphingosine-1-phosphate lyase 1	Cytoplasm
1,540	ITGB2	integrin, beta 2 (complement component 3 receptor 3 and 4 subunit)	Plasma Membrane
1,541	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
1,543	CAPG	capping protein (actin filament), gelsolin-like	Nucleus
1,544	ANXA4	annexin A4	Plasma Membrane
1,545	CLEC12A	C-type lectin domain family 12, member A	Plasma Membrane
1,548	CTHRC1	collagen triple helix repeat containing 1	Extracellular Space
1,553	TNFRSF1B	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1B	Plasma Membrane
1,559	PRUNE2	prune homolog 2 (Drosophila)	Other
1,561	HPSE	heparanase	Plasma Membrane
1,562	HEXB	hexosaminidase B (beta polypeptide)	Cytoplasm
1,570	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
1,572	NCAM1	neural cell adhesion molecule 1	Plasma Membrane
1,584	MYO5A	myosin VA (heavy chain 12, myosin)	Cytoplasm
1,587	SIRPA	signal-regulatory protein alpha	Plasma Membrane
1,593	PDGFRL	platelet-derived growth factor receptor-like	Plasma Membrane
1,596	IL10RA	interleukin 10 receptor, alpha	Plasma Membrane
1,596	RUNX1	runt-related transcription factor 1	Nucleus
1,603	SFRP1	secreted frizzled-related protein 1	Plasma Membrane
1,604	ANGPTL4	angiopoietin-like 4	Extracellular Space
1,604	Eef1a1	eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1	Cytoplasm
1,606	LAI1	leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor 1	Plasma Membrane
1,607	UNC93B1	unc-93 homolog B1 (C, elegans)	Cytoplasm
1,610	R3HDM1	R3H domain containing-like	Other
1,612	CDKN1A	cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (p21, Cip1)	Nucleus
1,612	KDELRL3	KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) endoplasmic reticulum protein retention receptor 3	Cytoplasm
1,615	CSF2RB	colony stimulating factor 2 receptor, beta, low-affinity	Plasma Membrane

		(granulocyte-macrophage)	
1,616	Milr1	mast cell immunoglobulin like receptor 1	Plasma Membrane
1,624	LOX	lysyl oxidase	Extracellular Space
1,630	FGL2	fibrinogen-like 2	Extracellular Space
1,632	Lyz1/Lyz2	lysozyme 2	Cytoplasm
1,634	CYTH4	cytohesin 4	Cytoplasm
1,640	RENBP	renin binding protein	Other
1,643	CYBA	cytochrome b-245, alpha polypeptide	Cytoplasm
1,643	STAB1	stabilin 1	Plasma Membrane
1,645	EMB	embigin	Plasma Membrane
1,648	AIF1L	allograft inflammatory factor 1-like	Plasma Membrane
1,648	CLEC4A	C-type lectin domain family 4, member A	Plasma Membrane
1,649	CCDC141	coiled-coil domain containing 141	Other
1,650	CAPN6	calpain 6	Cytoplasm
1,654	PLTP	phospholipid transfer protein	Extracellular Space
1,654	SLC37A2	solute carrier family 37 (glucose-6-phosphate transporter), member 2	Other
1,656	GRN	granulin	Extracellular Space
1,659	TNIP3	TNFAIP3 interacting protein 3	Other
1,662	C5AR1	complement component 5a receptor 1	Plasma Membrane
1,662	CSTB	cystatin B (stefin B)	Cytoplasm
1,667	HGF	hepatocyte growth factor (hepapoietin A; scatter factor)	Extracellular Space
1,676	CCDC141	coiled-coil domain containing 141	Other
1,680	RGS10	regulator of G-protein signaling 10	Cytoplasm
1,689	COL6A3	collagen, type VI, alpha 3	Extracellular Space
1,691	CD200R1	CD200 receptor 1	Plasma Membrane
1,694	CHRNA1	cholinergic receptor, nicotinic, alpha 1 (muscle)	Plasma Membrane
1,695	CD300LD	CD300 molecule-like family member d	Plasma Membrane
1,699	Bcl2a1c	B cell leukemia/lymphoma 2 related protein A1c	Other
1,699	GPR65	G protein-coupled receptor 65	Plasma Membrane
1,713	PRUNE2	prune homolog 2 (Drosophila)	Other
1,716	RGS1	regulator of G-protein signaling 1	Plasma Membrane
1,720	GLIPR1	GLI pathogenesis-related 1	Extracellular Space
1,723	CPXM1	carboxypeptidase X (M14 family), member 1	Extracellular Space
1,726	CSF1R	colony stimulating factor 1 receptor	Plasma Membrane
1,729	HLA-DRB1	major histocompatibility complex, class II, DR beta 1	Plasma Membrane
1,733	IL7R	interleukin 7 receptor	Plasma Membrane
1,734	FCGR3A	Fc fragment of IgG, low affinity IIIa, receptor (CD16a)	Plasma Membrane
1,739	A930003A15Rik	RIKEN cDNA A930003A15 gene	Other
1,740	PTAFR	platelet-activating factor receptor	Plasma Membrane
1,743	CD200R1L	CD200 receptor 1-like	Plasma Membrane
1,746	COL3A1	collagen, type III, alpha 1	Extracellular Space
1,749	MRC1	mannose receptor, C type 1	Plasma Membrane
1,750	IL13RA1	interleukin 13 receptor, alpha 1	Plasma Membrane
1,753	TMEM106A	transmembrane protein 106A	Other
1,755	PLD4	phospholipase D family, member 4	Extracellular Space
1,757	CCDC141	coiled-coil domain containing 141	Other
1,758	Lyz1/Lyz2	lysozyme 2	Cytoplasm
1,760	SLAMF7	SLAM family member 7	Plasma Membrane
1,767	AW551984	expressed sequence AW551984	Other
1,769	TM4SF19	transmembrane 4 L six family member 19	Other
1,774	MYH8	myosin, heavy chain 8, skeletal muscle, perinatal	Cytoplasm
1,780	MYOF	myoferlin	Nucleus
1,782	LRRC17	leucine rich repeat containing 17	Extracellular Space
1,785	CHRNA1	cholinergic receptor, nicotinic, gamma (muscle)	Plasma Membrane
1,792	NCKAP1L	NCK-associated protein 1-like	Plasma Membrane
1,794	THBS4	thrombospondin 4	Extracellular Space
1,795	PDPN	podoplanin	Plasma Membrane
1,798	ALCAM	activated leukocyte cell adhesion molecule	Plasma Membrane
1,798	CD53	CD53 molecule	Plasma Membrane
1,802	COL14A1	collagen, type XIV, alpha 1	Extracellular Space
1,803	TLR1	toll-like receptor 1	Plasma Membrane
1,810	5430435G22Rik	RIKEN cDNA 5430435G22 gene	Cytoplasm
1,811	HLA-DQB1	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1	Plasma Membrane
1,832	CD180	CD180 molecule	Plasma Membrane
1,836	Nxpe5	neurexophilin and PC-esterase domain family, member 5	Other
1,846	Ms4a6c	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6C	Other
1,857	ANPEP	alanine (membrane) aminopeptidase	Plasma Membrane
1,863	FABP5	fatty acid binding protein 5 (psoriasis-associated)	Cytoplasm
1,864	Gp49a/Lilrb4	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B, member 4	Other
1,865	LAT2	linker for activation of T cells family, member 2	Plasma Membrane
1,867	P2RX4	purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 4	Plasma Membrane

1,868	Tmsb4x (includes others)	thymosin, beta 4, X chromosome	Cytoplasm
1,869	FCER1G	Fc fragment of IgE, high affinity I, receptor for; gamma polypeptide	Plasma Membrane
1,878	MT1E	metallothionein 1E	Cytoplasm
1,880	FCGR1A	Fc fragment of IgG, high affinity Ia, receptor (CD64)	Plasma Membrane
1,885	PEG3	paternally expressed 3	Nucleus
1,895	CLEC6A	C-type lectin domain family 6, member A	Plasma Membrane
1,895	CTSH	cathepsin H	Cytoplasm
1,899	APOE	apolipoprotein E	Extracellular Space
1,911	HLA-DQA1	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1	Plasma Membrane
1,914	FABP5	fatty acid binding protein 5 (psoriasis-associated)	Cytoplasm
1,917	MYOG	myogenin (myogenic factor 4)	Nucleus
1,920	BAIAP2L1	BAI1-associated protein 2-like 1	Cytoplasm
1,920	DCLK1	doublecortin-like kinase 1	Other
1,920	Tmsb4x (includes others)	thymosin, beta 4, X chromosome	Cytoplasm
1,946	TYROBP	TYRO protein tyrosine kinase binding protein	Plasma Membrane
1,953	CD74	CD74 molecule, major histocompatibility complex, class II invariant chain	Plasma Membrane
1,978	S100A4	S100 calcium binding protein A4	Cytoplasm
1,981	IFI30	interferon, gamma-inducible protein 30	Cytoplasm
1,981	LGMN	legumain	Cytoplasm
1,987	BCL2A1	BCL2-related protein A1	Cytoplasm
1,988	Fcrls	Fc receptor-like S, scavenger receptor	Plasma Membrane
1,999	P2RY6	pyrimidinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 6	Plasma Membrane
2,019	FCGR2A	Fc fragment of IgG, low affinity IIa, receptor (CD32)	Plasma Membrane
2,020	COL8A1	collagen, type VIII, alpha 1	Extracellular Space
2,021	HPGDS	hematopoietic prostaglandin D synthase	Cytoplasm
2,031	MFAP4	microfibrillar-associated protein 4	Extracellular Space
2,032	BCL2A1	BCL2-related protein A1	Cytoplasm
2,040	ADAM8	ADAM metalloproteinase domain 8	Plasma Membrane
2,044	SOAT1	sterol O-acyltransferase 1	Cytoplasm
2,046	CILP	cartilage intermediate layer protein, nucleotide pyrophosphohydrolase	Extracellular Space
2,051	AKR1B10	aldo-keto reductase family 1, member B10 (aldose reductase)	Cytoplasm
2,056	TUBB2B	tubulin, beta 2B class IIb	Cytoplasm
2,060	Clec4a1	C-type lectin domain family 4, member a1	Other
2,063	CD84	CD84 molecule	Plasma Membrane
2,070	CXCL16	chemokine (C-X-C motif) ligand 16	Extracellular Space
2,072	BCL2A1	BCL2-related protein A1	Cytoplasm
2,073	SLC11A1	solute carrier family 11 (proton-coupled divalent metal ion transporter), member 1	Plasma Membrane
2,074	FCGR2B	Fc fragment of IgG, low affinity IIb, receptor (CD32)	Plasma Membrane
2,083	Snord53	small nucleolar RNA, C/D box 53	Other
2,089	Ms4a6b	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6B	Other
2,094	RRAD	Ras-related associated with diabetes	Cytoplasm
2,116	CD300C	CD300c molecule	Plasma Membrane
2,138	CCR2	chemokine (C-C motif) receptor 2	Plasma Membrane
2,139	MSR1	macrophage scavenger receptor 1	Plasma Membrane
2,154	CCDC141	coiled-coil domain containing 141	Other
2,190	C1QA	complement component 1, q subcomponent, A chain	Extracellular Space
2,202	DPEP2	dipeptidase 2	Plasma Membrane
2,206	TUBB6	tubulin, beta 6 class V	Cytoplasm
2,209	C1QC	complement component 1, q subcomponent, C chain	Extracellular Space
2,222	C1QB	complement component 1, q subcomponent, B chain	Extracellular Space
2,234	Ccl9	chemokine (C-C motif) ligand 9	Extracellular Space
2,246	Gp49a/Lilrb4	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B, member 4	Other
2,246	LIPA	lipase A, lysosomal acid, cholesterol esterase	Cytoplasm
2,265	APOBEC1	apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide 1	Cytoplasm
2,266	MS4A4A	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 4A	Other
2,275	MMP19	matrix metalloproteinase 19	Extracellular Space
2,280	ZDBF2	zinc finger, DBF-type containing 2	Other
2,282	FBLN7	fibulin 7	Extracellular Space
2,326	Ccl6	chemokine (C-C motif) ligand 6	Extracellular Space
2,349	MS4A14	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 14	Other
2,366	IGF2	insulin-like growth factor 2 (somatomedin A)	Extracellular Space
2,366	TREM2	triggering receptor expressed on myeloid cells 2	Plasma Membrane
2,401	Tlr13	toll-like receptor 13	Cytoplasm
2,448	MYL4	myosin, light chain 4, alkali; atrial, embryonic	Cytoplasm
2,516	CLEC7A	C-type lectin domain family 7, member A	Plasma Membrane
2,523	POSTN	periostin, osteoblast specific factor	Extracellular Space

<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd/-} vs Dmd^{mdx} 3 meses</i>			
Fold Change	Symbol	Entrez Gene Name	Location
-1,791	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
-1,681	LARGE	like-glycosyltransferase	Cytoplasm
-1,592	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
-1,548	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
-1,512	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
-1,480	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
-1,465	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
-1,452	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
-1,443	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
-1,441	Mup1 (includes others)	major urinary protein 1	Extracellular Space
-1,313	Pydc3/Pydc4	pyrin domain containing 4	Other
-1,041	C5orf28	chromosome 5 open reading frame 28	Other
-0,94	B3GNT3	UDP-GlcNAc:betaGal beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase 3	Cytoplasm
-0,812	ARNTL	aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like	Nucleus
-0,783	Klri1	killer cell lectin-like receptor family I member 1	Plasma Membrane
0,59	CCDC80	coiled-coil domain containing 80	Nucleus
0,609	Gm266	predicted gene 266	Other
0,618	GEM	GTP binding protein overexpressed in skeletal muscle	Plasma Membrane
0,638	PER3	period circadian clock 3	Nucleus
0,658	SRPX	sushi-repeat containing protein, X-linked	Cytoplasm
0,685	MATN2	matrilin 2	Extracellular Space
0,699	ADCYAP1R1	adenylate cyclase activating polypeptide 1 (pituitary) receptor type I	Plasma Membrane
0,711	ANGPTL4	angiopoietin-like 4	Extracellular Space
0,721	ENO2	enolase 2 (gamma, neuronal)	Cytoplasm
0,738	CACNA1A	calcium channel, voltage-dependent, P/Q type, alpha 1A subunit	Plasma Membrane
0,741	COL15A1	collagen, type XV, alpha 1	Extracellular Space
0,799	HLF	hepatic leukemia factor	Nucleus
0,805	MFAP2	microfibrillar-associated protein 2	Extracellular Space
0,814	NID2	nidogen 2 (osteonidogen)	Extracellular Space
0,829	SYNDIG1	synapse differentiation inducing 1	Plasma Membrane
0,847	AEBP1	AE binding protein 1	Nucleus
0,868	9030619P08Rik	RIKEN cDNA 9030619P08 gene	Other
0,871	COL14A1	collagen, type XIV, alpha 1	Extracellular Space
0,874	COL8A1	collagen, type VIII, alpha 1	Extracellular Space
0,878	PAMR1	peptidase domain containing associated with muscle regeneration 1	Extracellular Space
0,892	FIBIN	fin bud initiation factor homolog (zebrafish)	Other
0,914	MMP3	matrix metalloproteinase 3 (stromelysin 1, progelatinase)	Extracellular Space
0,977	AW551984	expressed sequence AW551984	Other
0,981	COL6A6	collagen, type VI, alpha 6	Extracellular Space
0,982	AF357355	snoRNA AF357355	Other
1,005	PDGFRL	platelet-derived growth factor receptor-like	Plasma Membrane
1,018	COL6A3	collagen, type VI, alpha 3	Extracellular Space
1,035	CPXM1	carboxypeptidase X (M14 family), member 1	Extracellular Space
1,042	OCEL1	occludin/ELL domain containing 1	Other
1,100	FBLN7	fibulin 7	Extracellular Space
1,104	DLK1	delta-like 1 homolog (Drosophila)	Extracellular Space
1,108	Klrb1c (includes others)	killer cell lectin-like receptor subfamily B member 1C	Plasma Membrane
1,149	CILP	cartilage intermediate layer protein, nucleotide pyrophosphohydrolase	Extracellular Space
1,172	Meg3	maternally expressed 3	Other
1,271	PIANP	PILR alpha associated neural protein	Other
1,299	MMP12	matrix metalloproteinase 12 (macrophage elastase)	Extracellular Space
1,523	VSIG4	V-set and immunoglobulin domain containing 4	Plasma Membrane
1,738	Snord53	small nucleolar RNA, C/D box 53	Other

<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-} vs Large^{myd-/-} 3 meses</i>			
Fold Change	Symbol	Entrez Gene Name	Location
-3,464	KLK3	kallikrein-related peptidase 3	Extracellular Space
-1,565	PTTG1	pituitary tumor-transforming 1	Nucleus
-1,379	KLK3	kallikrein-related peptidase 3	Extracellular Space
1,172	Lyz1/Lyz2	lysozyme 2	Cytoplasm
1,406	GAS5	growth arrest-specific 5 (non-protein coding)	Other
1,480	C10orf11	chromosome 10 open reading frame 11	Other
1,486	NXPE4	neurexophilin and PC-esterase domain family, member 4	Extracellular Space
1,488	SH2D1B	SH2 domain containing 1B	Cytoplasm
1,552	HLA-B	major histocompatibility complex, class I, B	Plasma Membrane
1,663	Snord53	small nucleolar RNA, C/D box 53	Other
1,674	RETNLB	resistin like beta	Extracellular Space
2,426	Zfp125	zinc finger protein 125	Nucleus

Dmd^{mdx} vs C57BL 6 meses

Fold Change	Symbol	Entrez Gene Name	Location
-3,796	OSTN	osteocrin	Extracellular Space
-2,107	PTTG1	pituitary tumor-transforming 1	Nucleus
-2,104	LGI1	leucine-rich, glioma inactivated 1	Plasma Membrane
-2,026	Ces1d	carboxylesterase 1D	Cytoplasm
-1,970	PLA2G5	phospholipase A2, group V	Extracellular Space
-1,871	PPP1R1A	protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 1A	Cytoplasm
-1,767	LRRCS2	leucine rich repeat containing 52	Other
-1,755	FASN	fatty acid synthase	Cytoplasm
-1,718	ELOVL6	ELOVL fatty acid elongase 6	Cytoplasm
-1,656	ASB4	ankyrin repeat and SOCS box containing 4	Nucleus
-1,654	OTUB2	OTU domain, ubiquitin aldehyde binding 2	Other
-1,603	ALAS2	aminolevulinate, delta-, synthase 2	Cytoplasm
-1,566	4933409K07Rik	RIKEN cDNA 4933409K07 gene	Other
-1,561	4933409K07Rik	RIKEN cDNA 4933409K07 gene	Other
-1,538	PCP4L1	Purkinje cell protein 4 like 1	Other
-1,475	HOMER2	homer homolog 2 (Drosophila)	Plasma Membrane
-1,457	Gm3893	predicted gene 3893	Other
-1,457	Gm3893	predicted gene 3893	Other
-1,444	MYL3	myosin, light chain 3, alkali; ventricular, skeletal, slow	Cytoplasm
-1,434	Orm1 (includes others)	orosomucoid 1	Extracellular Space
-1,419	DUSP26	dual specificity phosphatase 26 (putative)	Cytoplasm
-1,382	CYP4F22	cytochrome P450, family 4, subfamily F, polypeptide 22	Extracellular Space
-1,360	MSTN	myostatin	Extracellular Space
-1,352	4933409K07Rik	RIKEN cDNA 4933409K07 gene	Other
-1,351	Gm3893	predicted gene 3893	Other
-1,331	RHOU	ras homolog family member U	Cytoplasm
-1,324	FGFBP1	fibroblast growth factor binding protein 1	Extracellular Space
-1,302	KAZALD1	Kazal-type serine peptidase inhibitor domain 1	Extracellular Space
-1,300	PADI2	peptidyl arginine deiminase, type II	Cytoplasm
-1,298	PLAC9	placenta-specific 9	Other
-1,298	PLAC9	placenta-specific 9	Other
-1,297	PLAC9	placenta-specific 9	Other
-1,279	RASD2	RASD family, member 2	Cytoplasm
-1,270	4933409K07Rik	RIKEN cDNA 4933409K07 gene	Other
-1,246	FRZB	frizzled-related protein	Extracellular Space
-1,242	HS3ST5	heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 5	Cytoplasm
-1,237	DGAT2	diacylglycerol O-acyltransferase 2	Cytoplasm
-1,237	FAM213A	family with sequence similarity 213, member A	Extracellular Space
-1,215	PRSS55	protease, serine, 55	Other
-1,176	ACSS1	acyl-CoA synthetase short-chain family member 1	Cytoplasm
-1,171	4933409K07Rik	RIKEN cDNA 4933409K07 gene	Other
-1,169	LDHB	lactate dehydrogenase B	Cytoplasm
-1,164	BDH1	3-hydroxybutyrate dehydrogenase, type 1	Cytoplasm
-1,154	HOXD10	homeobox D10	Nucleus
-1,146	METTL11B	methyltransferase like 11B	Other
-1,139	ALPK2	alpha-kinase 2	Other
-1,139	EGF	epidermal growth factor	Extracellular Space
-1,133	MICAL2	microtubule associated monooxygenase, calponin and LIM domain containing 2	Cytoplasm
-1,130	BC048679	cDNA sequence BC048679	Other
-1,127	CDH4	cadherin 4, type 1, R-cadherin (retinal)	Plasma Membrane
-1,106	ASB2	ankyrin repeat and SOCS box containing 2	Nucleus
-1,098	LDHB	lactate dehydrogenase B	Cytoplasm
-1,075	FZD9	frizzled family receptor 9	Plasma Membrane
-1,019	Mrgprh	MAS-related GPR, member H	Plasma Membrane
-1,015	PARM1	prostate androgen-regulated mucin-like protein 1	Extracellular Space
-1,008	DUSP8	dual specificity phosphatase 8	Nucleus
-1,007	ACSS2	acyl-CoA synthetase short-chain family member 2	Cytoplasm
-1,007	STK40	serine/threonine kinase 40	Cytoplasm
-0,997	KLHL38	kelch-like family member 38	Other
-0,994	SLC4A4	solute carrier family 4 (sodium bicarbonate cotransporter), member 4	Plasma Membrane
-0,982	SLC38A3	solute carrier family 38, member 3	Plasma Membrane
-0,976	HNMT	histamine N-methyltransferase	Cytoplasm
-0,965	ST8SIA5	ST8 alpha-N-acetyl-neuraminide alpha-2,8-sialyltransferase 5	Cytoplasm
-0,958	EPHX2	epoxide hydrolase 2, cytoplasmic	Cytoplasm
-0,929	CLIP4	CAP-GLY domain containing linker protein family, member 4	Other
-0,922	Gm4861	predicted gene 4861	Other

-0,858	OSBPL6	oxysterol binding protein-like 6	Cytoplasm
-0,833	SLC41A3	solute carrier family 41, member 3	Other
-0,827	GPCPD1	glycerophosphocholine phosphodiesterase GDE1 homolog (S, cerevisiae)	Other
0,675	SNX5	sorting nexin 5	Cytoplasm
0,676	IFT122	intraflagellar transport 122 homolog (Chlamydomonas)	Nucleus
0,681	MFAP2	microfibrillar-associated protein 2	Extracellular Space
0,694	MDFIC	MyoD family inhibitor domain containing	Nucleus
0,696	ASAH1	N-acylsphingosine amidohydrolase (acid ceramidase) 1	Cytoplasm
0,703	SULF2	sulfatase 2	Plasma Membrane
0,706	IGSF10	immunoglobulin superfamily, member 10	Other
0,714	RCN1	reticulocalbin 1, EF-hand calcium binding domain	Cytoplasm
0,725	PDGFRL	platelet-derived growth factor receptor-like	Plasma Membrane
0,735	B4GALT5	UDP-Gal:betaGlcNAc beta 1,4- galactosyltransferase, polypeptide 5	Cytoplasm
0,741	CA13	carbonic anhydrase XIII	Cytoplasm
0,754	ANXA5	annexin A5	Plasma Membrane
0,759	DAP	death-associated protein	Cytoplasm
0,759	FUCA1	fucosidase, alpha-L- 1, tissue	Cytoplasm
0,761	ARPC1B	actin related protein 2/3 complex, subunit 1B, 41kDa	Cytoplasm
0,763	FKBP10	FK506 binding protein 10, 65 kDa	Cytoplasm
0,765	EMP1	epithelial membrane protein 1	Plasma Membrane
0,768	TBX4	T-box 4	Nucleus
0,773	ECM1	extracellular matrix protein 1	Extracellular Space
0,773	GLTP	glycolipid transfer protein	Cytoplasm
0,773	SDCBP	syndecan binding protein (syntenin)	Plasma Membrane
0,778	MGAT2	mannosyl (alpha-1,6-)-glycoprotein beta-1,2-N-acetylglucosaminyltransferase	Cytoplasm
0,779	Sept9	septin 9	Cytoplasm
0,78	Gm6548	eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1 pseudogene	Other
0,782	Fmn1	formin 1	Other
0,783	CLCN5	chloride channel, voltage-sensitive 5	Plasma Membrane
0,788	Ms4a4b (includes others)	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 4B	Plasma Membrane
0,788	PID1	phosphotyrosine interaction domain containing 1	Cytoplasm
0,789	STEAP2	STEAP family member 2, metalloreductase	Plasma Membrane
0,79	NPM1	nucleophosmin (nucleolar phosphoprotein B23, numatrin)	Nucleus
0,793	CD93	CD93 molecule	Plasma Membrane
0,794	IL10RB	interleukin 10 receptor, beta	Plasma Membrane
0,797	CCBE1	collagen and calcium binding EGF domains 1	Extracellular Space
0,798	PPT1	palmitoyl-protein thioesterase 1	Cytoplasm
0,799	SCPEP1	serine carboxypeptidase 1	Cytoplasm
0,803	ABCA1	ATP-binding cassette, sub-family A (ABC1), member 1	Plasma Membrane
0,805	MAGED2	melanoma antigen family D, 2	Plasma Membrane
0,806	KIAA1598	KIAA1598	Other
0,81	CD63	CD63 molecule	Plasma Membrane
0,822	CD300A	CD300a molecule	Plasma Membrane
0,822	NES	nestin	Cytoplasm
0,823	FSTL1	folliculin-like 1	Extracellular Space
0,824	PDIA3	protein disulfide isomerase family A, member 3	Cytoplasm
0,827	GPR114	G protein-coupled receptor 114	Plasma Membrane
0,829	SRPX2	sushi-repeat containing protein, X-linked 2	Cytoplasm
0,831	P2RX7	purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 7	Plasma Membrane
0,833	PLD3	phospholipase D family, member 3	Cytoplasm
0,834	NOSTRIN	nitric oxide synthase trafficking	Cytoplasm
0,835	CD80	CD80 molecule	Plasma Membrane
0,835	RRAD	Ras-related associated with diabetes	Cytoplasm
0,836	VAT1	vesicle amine transport 1	Plasma Membrane
0,838	FTL	ferritin, light polypeptide	Cytoplasm
0,838	SLC29A3	solute carrier family 29 (equilibrative nucleoside transporter), member 3	Plasma Membrane
0,843	ARL11	ADP-ribosylation factor-like 11	Other
0,851	PIP4K2A	phosphatidylinositol-5-phosphate 4-kinase, type II, alpha	Cytoplasm
0,856	COL5A2	collagen, type V, alpha 2	Extracellular Space
0,857	CTSC	cathepsin C	Cytoplasm
0,86	CTSB	cathepsin B	Cytoplasm
0,862	SOX11	SRY (sex determining region Y)-box 11	Nucleus
0,864	CD302	CD302 molecule	Plasma Membrane
0,865	Ahnak2	AHNK nucleoprotein 2	Other
0,866	FTL	ferritin, light polypeptide	Cytoplasm
0,866	SLAMF8	SLAM family member 8	Extracellular Space
0,867	SAT1	spermidine/spermine N1-acetyltransferase 1	Cytoplasm
0,871	FTL	ferritin, light polypeptide	Cytoplasm

0,876	ANXA2	annexin A2	Plasma Membrane
0,878	ARL14EP	ADP-ribosylation factor-like 14 effector protein	Other
0,881	SH3BP2	SH3-domain binding protein 2	Cytoplasm
0,882	EGFR	epidermal growth factor receptor	Plasma Membrane
0,882	KDEL3	KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) endoplasmic reticulum protein retention receptor 3	Cytoplasm
0,883	ALCAM	activated leukocyte cell adhesion molecule	Plasma Membrane
0,883	GAMT	guanidinoacetate N-methyltransferase	Cytoplasm
0,894	FAM129B	family with sequence similarity 129, member B	Cytoplasm
0,896	COL14A1	collagen, type XIV, alpha 1	Extracellular Space
0,898	Nlrp1c-ps	NLR family, pyrin domain containing 1C, pseudogene	Other
0,898	SYTL2	synaptotagmin-like 2	Cytoplasm
0,9	AIF1L	allograft inflammatory factor 1-like	Plasma Membrane
0,902	ABRACL	ABRA C-terminal like	Other
0,903	CDK14	cyclin-dependent kinase 14	Nucleus
0,904	CMTM3	CKLF-like MARVEL transmembrane domain containing 3	Extracellular Space
0,905	CLEC10A	C-type lectin domain family 10, member A	Plasma Membrane
0,905	ID2	inhibitor of DNA binding 2, dominant negative helix-loop-helix protein	Nucleus
0,905	TUBB2A	tubulin, beta 2A class IIa	Cytoplasm
0,907	CD14	CD14 molecule	Plasma Membrane
0,909	FAM49A	family with sequence similarity 49, member A	Other
0,909	HLA-DMA	major histocompatibility complex, class II, DM alpha	Plasma Membrane
0,917	GPR34	G protein-coupled receptor 34	Plasma Membrane
0,919	C1orf54	chromosome 1 open reading frame 54	Other
0,924	SNORD35B	small nucleolar RNA, C/D box 35B	Other
0,926	TUBB2B	tubulin, beta 2B class IIb	Cytoplasm
0,927	HS6ST2	heparan sulfate 6-O-sulfotransferase 2	Plasma Membrane
0,928	THBS4	thrombospondin 4	Extracellular Space
0,933	MMP14	matrix metalloproteinase 14 (membrane-inserted)	Extracellular Space
0,936	ADAM19	ADAM metalloproteinase domain 19	Plasma Membrane
0,937	LITAF	lipopolysaccharide-induced TNF factor	Nucleus
0,938	Snora73a	small nucleolar RNA, H/ACA box 73a	Other
0,939	TGFB1	transforming growth factor, beta 1	Extracellular Space
0,939	TLR9	toll-like receptor 9	Plasma Membrane
0,941	DSE	dermatan sulfate epimerase	Cytoplasm
0,941	HAVCR2	hepatitis A virus cellular receptor 2	Plasma Membrane
0,946	FTL	ferritin, light polypeptide	Cytoplasm
0,95	CCDC109B	coiled-coil domain containing 109B	Cytoplasm
0,953	BAIAP2L1	BAI1-associated protein 2-like 1	Cytoplasm
0,954	COTL1	coactosin-like 1 (Dictyostelium)	Cytoplasm
0,957	CTHRC1	collagen triple helix repeat containing 1	Extracellular Space
0,959	Epsti1	epithelial stromal interaction 1 (breast)	Other
0,96	CERS6	ceramide synthase 6	Nucleus
0,96	PLEKHO2	pleckstrin homology domain containing, family O member 2	Cytoplasm
0,964	SGPL1	sphingosine-1-phosphate lyase 1	Cytoplasm
0,965	MFAP4	microfibrillar-associated protein 4	Extracellular Space
0,97	MARCKS	myristoylated alanine-rich protein kinase C substrate	Plasma Membrane
0,972	ACER3	alkaline ceramidase 3	Cytoplasm
0,974	GLA	galactosidase, alpha	Cytoplasm
0,974	Snora73b	small nucleolar RNA, H/ACA box 73b	Other
0,974	VASH2	vasohibin 2	Cytoplasm
0,981	BMPER	BMP binding endothelial regulator	Extracellular Space
0,981	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
0,992	PLAU	plasminogen activator, urokinase	Extracellular Space
0,994	CLEC6A	C-type lectin domain family 6, member A	Plasma Membrane
0,997	PTPRJ	protein tyrosine phosphatase, receptor type, J	Plasma Membrane
0,997	TNIP3	TNFAIP3 interacting protein 3	Other
0,999	INPP5D	inositol polyphosphate-5-phosphatase, 145kDa	Cytoplasm
1,000	PAK1	p21 protein (Cdc42/Rac)-activated kinase 1	Cytoplasm
1,005	CD109	CD109 molecule	Plasma Membrane
1,007	ABCC3	ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 3	Plasma Membrane
1,007	TGFB1	transforming growth factor, beta-induced, 68kDa	Extracellular Space
1,008	SERPINF6	serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 6	Cytoplasm
1,012	MYOG	myogenin (myogenic factor 4)	Nucleus
1,013	ADAP2	ArfGAP with dual PH domains 2	Cytoplasm
1,016	Zim1	zinc finger, imprinted 1	Nucleus
1,017	CFB	complement factor B	Extracellular Space
1,020	GALNT5	UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 5 (GalNAc-T5)	Cytoplasm
1,023	IL1RL2	interleukin 1 receptor-like 2	Plasma Membrane

1,025	APBB1IP	amyloid beta (A4) precursor protein-binding, family B, member 1 interacting protein	Cytoplasm
1,025	F13A1	coagulation factor XIII, A1 polypeptide	Extracellular Space
1,026	RAB31	RAB31, member RAS oncogene family	Cytoplasm
1,031	PI15	peptidase inhibitor 15	Extracellular Space
1,032	FN1	fibronectin 1	Extracellular Space
1,034	A630033H20Rik	RIKEN cDNA A630033H20 gene	Plasma Membrane
1,036	PTPRJ	protein tyrosine phosphatase, receptor type, J	Plasma Membrane
1,037	TCIRG1	T-cell, immune regulator 1, ATPase, H+ transporting, lysosomal V0 subunit A3	Plasma Membrane
1,038	CTSZ	cathepsin Z	Cytoplasm
1,045	Nxpe5	neurexophilin and PC-esterase domain family, member 5	Other
1,051	GUSB	glucuronidase, beta	Cytoplasm
1,057	PLXNC1	plexin C1	Plasma Membrane
1,062	TM6SF1	transmembrane 6 superfamily member 1	Plasma Membrane
1,064	CYSLTR1	cysteinyl leukotriene receptor 1	Plasma Membrane
1,075	LAYN	layilin	Plasma Membrane
1,084	LY9	lymphocyte antigen 9	Plasma Membrane
1,086	CX3CR1	chemokine (C-X3-C motif) receptor 1	Plasma Membrane
1,088	CAPG	capping protein (actin filament), gelsolin-like	Nucleus
1,088	TMEM176B	transmembrane protein 176B	Other
1,089	PLXNB2	plexin B2	Plasma Membrane
1,091	SH2D1B	SH2 domain containing 1B	Cytoplasm
1,097	Trim30a/Trim30d	tripartite motif-containing 30A	Cytoplasm
1,098	PDPN	podoplanin	Plasma Membrane
1,099	DAB2	Dab, mitogen-responsive phosphoprotein, homolog 2 (Drosophila)	Plasma Membrane
1,103	TBXAS1	thromboxane A synthase 1 (platelet)	Plasma Membrane
1,106	Bcl2a1c	B cell leukemia/lymphoma 2 related protein A1c	Other
1,106	PLTP	phospholipid transfer protein	Extracellular Space
1,106	RTP4	receptor (chemosensory) transporter protein 4	Plasma Membrane
1,108	NAIP	NLR family, apoptosis inhibitory protein	Other
1,110	MAP1B	microtubule-associated protein 1B	Cytoplasm
1,111	CYP4F2	cytochrome P450, family 4, subfamily F, polypeptide 2	Cytoplasm
1,111	VCAN	versican	Extracellular Space
1,117	CD200R1L	CD200 receptor 1-like	Plasma Membrane
1,119	THEMIS2	thymocyte selection associated family member 2	Other
1,119	ZNF761	zinc finger protein 761	Nucleus
1,124	PTPRC	protein tyrosine phosphatase, receptor type, C	Plasma Membrane
1,125	CD44	CD44 molecule (Indian blood group)	Plasma Membrane
1,125	LPCAT2	lysophosphatidylcholine acyltransferase 2	Cytoplasm
1,130	HGF	hepatocyte growth factor (hepapoietin A; scatter factor)	Extracellular Space
1,131	CD200R1	CD200 receptor 1	Plasma Membrane
1,138	LILRB3	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B (with TM and ITIM domains), member 3	Plasma Membrane
1,139	COL6A3	collagen, type VI, alpha 3	Extracellular Space
1,142	PTPLAD2	protein tyrosine phosphatase-like A domain containing 2	Other
1,143	ABCG1	ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 1	Plasma Membrane
1,145	CHRNA3	cholinergic receptor, nicotinic, gamma (muscle)	Plasma Membrane
1,159	CSF2RB	colony stimulating factor 2 receptor, beta, low-affinity (granulocyte-macrophage)	Plasma Membrane
1,159	FOLR2	folate receptor 2 (fetal)	Plasma Membrane
1,161	AIF1	allograft inflammatory factor 1	Nucleus
1,165	MYH8	myosin, heavy chain 8, skeletal muscle, perinatal	Cytoplasm
1,171	ALOX5AP	arachidonate 5-lipoxygenase-activating protein	Plasma Membrane
1,171	DOCK2	dedicator of cytokinesis 2	Cytoplasm
1,176	LPXN	leupaxin	Cytoplasm
1,177	FAM105A	family with sequence similarity 105, member A	Other
1,177	SLC9A9	solute carrier family 9, subfamily A (NHE9, cation proton antiporter 9), member 9	Cytoplasm
1,183	LACC1	laccase (multicopper oxidoreductase) domain containing 1	Other
1,186	IL13RA1	interleukin 13 receptor, alpha 1	Plasma Membrane
1,186	TNFRSF1B	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1B	Plasma Membrane
1,187	ANPEP	alanine aminopeptidase	Plasma Membrane
1,188	RENBP	renin binding protein	Other
1,189	CYBA	cytochrome b-245, alpha polypeptide	Cytoplasm
1,193	Trim30a/Trim30d	tripartite motif-containing 30A	Cytoplasm
1,197	B4GALT6	UDP-Gal:betaGlcNAc beta 1,4- galactosyltransferase, polypeptide 6	Cytoplasm
1,200	CCDC141	coiled-coil domain containing 141	Other
1,201	CD300LD	CD300 molecule-like family member d	Plasma Membrane
1,203	COL8A1	collagen, type VIII, alpha 1	Extracellular Space
1,206	ANXA4	annexin A4	Plasma Membrane
1,206	SPI1	spleen focus forming virus (SFFV) proviral integration oncogene	Nucleus

1,210	SLC25A24	solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; phosphate carrier), member 24	Cytoplasm
1,219	Gpr137b-ps	G protein-coupled receptor 137B, pseudogene	Other
1,222	PIK3AP1	phosphoinositide-3-kinase adaptor protein 1	Cytoplasm
1,228	EMB	embigin	Plasma Membrane
1,232	MYO1F	myosin IF	Cytoplasm
1,234	SIGLEC1	sialic acid binding Ig-like lectin 1, sialoadhesin	Plasma Membrane
1,238	LCP1	lymphocyte cytosolic protein 1 (L-plastin)	Cytoplasm
1,239	CSTB	cystatin B (stefin B)	Cytoplasm
1,243	CAPN6	calpain 6	Cytoplasm
1,245	PLEKHO1	pleckstrin homology domain containing, family O member 1	Plasma Membrane
1,247	Oasl2	2'-5' oligoadenylate synthetase-like 2	Other
1,248	RASSF4	Ras association (RalGDS/AF-6) domain family member 4	Other
1,249	PEG3	paternally expressed 3	Nucleus
1,261	LRRC17	leucine rich repeat containing 17	Extracellular Space
1,268	APOE	apolipoprotein E	Extracellular Space
1,270	SLFN13	schlafen family member 13	Nucleus
1,271	Sirpb1a (includes others)	signal-regulatory protein beta 1A	Plasma Membrane
1,271	Tmsb4x (includes others)	thymosin, beta 4, X chromosome	Cytoplasm
1,272	MT1E	metallothionein 1E	Cytoplasm
1,282	TUBB2B	tubulin, beta 2B class IIb	Cytoplasm
1,284	CYBB	cytochrome b-245, beta polypeptide	Cytoplasm
1,291	DCLK1	doublecortin-like kinase 1	Other
1,294	SLC37A2	solute carrier family 37 (glucose-6-phosphate transporter), member 2	Other
1,296	OAS1	2'-5'-oligoadenylate synthetase 1, 40/46kDa	Cytoplasm
1,297	Gm5431	predicted gene 5431	Other
1,298	Lyz1/Lyz2	lysozyme 2	Cytoplasm
1,316	RGS1	regulator of G-protein signaling 1	Plasma Membrane
1,316	RGS10	regulator of G-protein signaling 10	Cytoplasm
1,324	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
1,325	CHRNA1	cholinergic receptor, nicotinic, alpha 1 (muscle)	Plasma Membrane
1,330	CD48	CD48 molecule	Plasma Membrane
1,330	FABP5	fatty acid binding protein 5 (psoriasis-associated)	Cytoplasm
1,330	HLA-DQA1	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1	Plasma Membrane
1,331	C5AR1	complement component 5a receptor 1	Plasma Membrane
1,333	FABP5	fatty acid binding protein 5 (psoriasis-associated)	Cytoplasm
1,333	Tmsb4x (includes others)	thymosin, beta 4, X chromosome	Cytoplasm
1,336	Eef1a1	eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1	Cytoplasm
1,336	HLA-DRB1	major histocompatibility complex, class II, DR beta 1	Plasma Membrane
1,338	SIRPA	signal-regulatory protein alpha	Plasma Membrane
1,339	LOX	lysyl oxidase	Extracellular Space
1,348	IRF7	interferon regulatory factor 7	Nucleus
1,348	P2RX4	purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 4	Plasma Membrane
1,351	UNC93B1	unc-93 homolog B1 (C, elegans)	Cytoplasm
1,352	RUNX1	runt-related transcription factor 1	Nucleus
1,356	SLC15A3	solute carrier family 15 (oligopeptide transporter), member 3	Cytoplasm
1,358	CXCL16	chemokine (C-X-C motif) ligand 16	Extracellular Space
1,373	CCDC141	coiled-coil domain containing 141	Other
1,376	LPTM5	lysosomal protein transmembrane 5	Plasma Membrane
1,383	GRN	granulin	Extracellular Space
1,384	LAIR1	leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor 1	Plasma Membrane
1,384	MYO5A	myosin VA (heavy chain 12, myoxin)	Cytoplasm
1,386	MMP19	matrix metalloproteinase 19	Extracellular Space
1,395	Serpnb6b	serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B, member 6b	Other
1,399	HEXB	hexosaminidase B (beta polypeptide)	Cytoplasm
1,402	Lyz1/Lyz2	lysozyme 2	Cytoplasm
1,403	GPR65	G protein-coupled receptor 65	Plasma Membrane
1,408	TMEM106A	transmembrane protein 106A	Other
1,410	FBLN7	fibulin 7	Extracellular Space
1,413	SFRP1	secreted frizzled-related protein 1	Plasma Membrane
1,419	FYB	FYN binding protein	Nucleus
1,421	CD300LD	CD300 molecule-like family member d	Plasma Membrane
1,424	CD300LD	CD300 molecule-like family member d	Plasma Membrane
1,425	AKR1B10	aldo-keto reductase family 1, member B10 (aldose reductase)	Cytoplasm
1,430	HPSE	heparanase	Plasma Membrane
1,431	HLA-DQB1	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1	Plasma Membrane
1,431	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other

1,431	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,431	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,431	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,431	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,431	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,431	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,431	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,431	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,431	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,431	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,431	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,431	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,431	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,431	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,431	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,431	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,437	MRC1	mannose receptor, C type 1	Plasma Membrane
1,442	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,444	CILP	cartilage intermediate layer protein, nucleotide pyrophosphohydrolase	Extracellular Space
1,445	COL3A1	collagen, type III, alpha 1	Extracellular Space
1,445	Olfr1372-ps1	olfactory receptor 1372, pseudogene 1	Other
1,447	STAB1	stabilin 1	Plasma Membrane
1,448	CLEC12A	C-type lectin domain family 12, member A	Plasma Membrane
1,449	IL10RA	interleukin 10 receptor, alpha	Plasma Membrane
1,455	CD74	CD74 molecule, major histocompatibility complex, class II invariant chain	Plasma Membrane
1,458	CD53	CD53 molecule	Plasma Membrane
1,462	CYTH4	cytohesin 4	Cytoplasm
1,463	Fcrls	Fc receptor-like S, scavenger receptor	Plasma Membrane
1,465	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
1,472	SLC11A1	solute carrier family 11 (proton-coupled divalent metal ion transporter), member 1	Plasma Membrane
1,492	Nt5dc2	5'-nucleotidase domain containing 2	Other
1,501	BCL2A1	BCL2-related protein A1	Cytoplasm
1,504	TYROBP	TYRO protein tyrosine kinase binding protein	Plasma Membrane
1,509	BCL2A1	BCL2-related protein A1	Cytoplasm
1,509	Milr1	mast cell immunoglobulin like receptor 1	Plasma Membrane
1,510	CTXN3	cortexin 3	Other
1,513	CTSH	cathepsin H	Cytoplasm
1,520	PTAFR	platelet-activating factor receptor	Plasma Membrane
1,523	ZDBF2	zinc finger, DBF-type containing 2	Other
1,525	MYOF	myoferlin	Nucleus
1,525	TTC9	tetratricopeptide repeat domain 9	Extracellular Space
1,532	ITGAX	integrin, alpha X (complement component 3 receptor 4 subunit)	Plasma Membrane
1,545	RASGEF1B	RasGEF domain family, member 1B	Other
1,549	PEG3	paternally expressed 3	Nucleus
1,560	ADAM8	ADAM metallopeptidase domain 8	Plasma Membrane
1,562	BCL2A1	BCL2-related protein A1	Cytoplasm
1,562	CSF1R	colony stimulating factor 1 receptor	Plasma Membrane
1,570	FCGR3A	Fc fragment of IgG, low affinity IIIa, receptor (CD16a)	Plasma Membrane
1,578	PLD4	phospholipase D family, member 4	Extracellular Space
1,580	TLR1	toll-like receptor 1	Plasma Membrane
1,591	CLEC7A	C-type lectin domain family 7, member A	Plasma Membrane
1,591	LAT2	linker for activation of T cells family, member 2	Plasma Membrane
1,594	FCGR2A	Fc fragment of IgG, low affinity IIa, receptor (CD32)	Plasma Membrane
1,598	FCGR2B	Fc fragment of IgG, low affinity IIb, receptor (CD32)	Plasma Membrane
1,600	5430435G22Rik	RIKEN cDNA 5430435G22 gene	Cytoplasm
1,603	S100A4	S100 calcium binding protein A4	Cytoplasm
1,612	C14orf37	chromosome 14 open reading frame 37	Extracellular Space
1,626	FCER1G	Fc fragment of IgE, high affinity I, receptor for; gamma polypeptide	Plasma Membrane
1,641	C1QA	complement component 1, q subcomponent, A chain	Extracellular Space
1,648	NCKAP1L	NCK-associated protein 1-like	Plasma Membrane
1,656	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
1,665	LIPA	lipase A, lysosomal acid, cholesterol esterase	Cytoplasm
1,672	HPGDS	hematopoietic prostaglandin D synthase	Cytoplasm
1,674	FCGR1A	Fc fragment of IgG, high affinity Ia, receptor (CD64)	Plasma Membrane
1,676	CD300C	CD300c molecule	Plasma Membrane

1,684	LGMN	legumain	Cytoplasm
1,695	IFI30	interferon, gamma-inducible protein 30	Cytoplasm
1,697	MYL4	myosin, light chain 4, alkali; atrial, embryonic	Cytoplasm
1,705	DPEP2	dipeptidase 2	Plasma Membrane
1,706	P2RY6	pyrimidinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 6	Plasma Membrane
1,727	C1QC	complement component 1, q subcomponent, C chain	Extracellular Space
1,728	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
1,734	Ccl6	chemokine (C-C motif) ligand 6	Extracellular Space
1,734	TUBB6	tubulin, beta 6 class V	Cytoplasm
1,739	IL7R	interleukin 7 receptor	Plasma Membrane
1,781	SOAT1	sterol O-acyltransferase 1	Cytoplasm
1,817	SLAMF7	SLAM family member 7	Plasma Membrane
1,819	Clec4a1	C-type lectin domain family 4, member a1	Other
1,819	TREM2	triggering receptor expressed on myeloid cells 2	Plasma Membrane
1,834	Ccl9	chemokine (C-C motif) ligand 9	Extracellular Space
1,836	IGF2	insulin-like growth factor 2 (somatomedin A)	Extracellular Space
1,892	Gp49a/Lilrb4	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B, member 4	Other
1,894	ATP6V0D2	ATPase, H+ transporting, lysosomal 38kDa, V0 subunit d2	Cytoplasm
1,899	MT1H	metallothionein 1H	Other
1,900	MSR1	macrophage scavenger receptor 1	Plasma Membrane
1,953	MMP3	matrix metalloproteinase 3 (stromelysin 1, procollagenase)	Extracellular Space
1,967	POSTN	periostin, osteoblast specific factor	Extracellular Space
1,970	C1QB	complement component 1, q subcomponent, B chain	Extracellular Space
1,972	CD84	CD84 molecule	Plasma Membrane
1,980	CCR2	chemokine (C-C motif) receptor 2	Plasma Membrane
2,006	C1QTNF3	C1q and tumor necrosis factor related protein 3	Extracellular Space
2,017	TNNT2	troponin T type 2 (cardiac)	Cytoplasm
2,024	CD180	CD180 molecule	Plasma Membrane
2,025	Clec4a3	C-type lectin domain family 4, member a3	Other
2,065	GAL	galanin/GMAP prepropeptide	Extracellular Space
2,068	Gp49a/Lilrb4	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B, member 4	Other
2,082	Ccl2	chemokine (C-C motif) ligand 2	Extracellular Space
2,090	Ms4a4b (includes others)	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 4B	Plasma Membrane
2,095	TMEM8C	transmembrane protein 8C	Plasma Membrane
2,096	APOBEC1	apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide 1	Cytoplasm
2,101	PRG4	proteoglycan 4	Extracellular Space
2,116	SERPINA3	serpin peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antitrypsin), member 3	Extracellular Space
2,131	CCL7	chemokine (C-C motif) ligand 7	Extracellular Space
2,131	PRUNE2	prune homolog 2 (Drosophila)	Other
2,142	CCR5	chemokine (C-C motif) receptor 5 (gene/pseudogene)	Plasma Membrane
2,142	CCR5	chemokine (C-C motif) receptor 5 (gene/pseudogene)	Plasma Membrane
2,161	Ms4a6c	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6C	Other
2,189	Ms4a6b	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6B	Other
2,213	Tlr13	toll-like receptor 13	Cytoplasm
2,233	LY86	lymphocyte antigen 86	Plasma Membrane
2,246	Wfdc17	WAP four-disulfide core domain 17	Other
2,252	PCBD1	pterin-4 alpha-carbinolamine dehydratase/dimerization cofactor of hepatocyte nuclear factor 1 alpha	Nucleus
2,263	ANKRD1	ankyrin repeat domain 1 (cardiac muscle)	Cytoplasm
2,290	GLIPR1	GLI pathogenesis-related 1	Extracellular Space
2,301	PRUNE2	prune homolog 2 (Drosophila)	Other
2,364	EMR1	egf-like module containing, mucin-like, hormone receptor-like 1	Plasma Membrane
2,429	MS4A4A	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 4A	Other
2,447	CCL3L1/CCL3L3	chemokine (C-C motif) ligand 3-like 1	Extracellular Space
2,489	MS4A14	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 14	Other
2,519	MPEG1	macrophage expressed 1	Cytoplasm
2,530	CD68	CD68 molecule	Plasma Membrane
2,602	LGALS3	lectin, galactoside-binding, soluble, 3	Extracellular Space
2,602	TIMP1	TIMP metalloproteinase inhibitor 1	Extracellular Space
2,810	Ccl8	chemokine (C-C motif) ligand 8	Extracellular Space
2,833	MYH3	myosin, heavy chain 3, skeletal muscle, embryonic	Cytoplasm
2,902	CTSS	cathepsin S	Cytoplasm
2,952	MS4A6A	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6A	Other
2,965	MMP12	matrix metalloproteinase 12 (macrophage elastase)	Extracellular Space
3,004	GNPMB	glycoprotein (transmembrane) nmb	Plasma Membrane
3,157	MS4A7	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 7	Other
3,310	AKR1E2	aldo-keto reductase family 1, member E2	Cytoplasm
3,421	C3AR1	complement component 3a receptor 1	Plasma Membrane

Large^{myd/-} vs C57BL 6 meses			
Fold Change	Symbol	Entrez Gene Name	Location
-3,118	OSTN	osteocrin	Extracellular Space
-2,526	MSTN	myostatin	Extracellular Space
-2,360	CHAC1	ChaC, cation transport regulator homolog 1 (E. coli)	Cytoplasm
-2,342	METTLL11B	methyltransferase like 11B	Other
-2,221	PLCD4	phospholipase C, delta 4	Cytoplasm
-1,999	CYP4F22	cytochrome P450, family 4, subfamily F, polypeptide 22	Extracellular Space
-1,931	LARGE	like-glycosyltransferase	Cytoplasm
-1,927	ASB4	ankyrin repeat and SOCS box containing 4	Nucleus
-1,887	OTUB2	OTU domain, ubiquitin aldehyde binding 2	Other
-1,857	ASB2	ankyrin repeat and SOCS box containing 2	Nucleus
-1,846	ST8SIA5	ST8 alpha-N-acetyl-neuraminide alpha-2,8-sialyltransferase 5	Cytoplasm
-1,734	VWA3B	von Willebrand factor A domain containing 3B	Other
-1,732	BEST3	bestrophin 3	Nucleus
-1,698	HRASLS	HRAS-like suppressor	Cytoplasm
-1,679	PDE4D	phosphodiesterase 4D, cAMP-specific	Cytoplasm
-1,675	TSPAN8	tetraspanin 8	Plasma Membrane
-1,653	MSS51	MSS51 mitochondrial translational activator	Other
-1,643	ASB16	ankyrin repeat and SOCS box containing 16	Other
-1,618	FBP2	fructose-1,6-bisphosphatase 2	Cytoplasm
-1,606	KLHL38	kelch-like family member 38	Other
-1,595	MICAL2	microtubule associated monooxygenase, calponin and LIM domain containing 2	Cytoplasm
-1,570	MYLK2	myosin light chain kinase 2	Cytoplasm
-1,564	GPCPD1	glycerophosphocholine phosphodiesterase GDE1 homolog (S, cerevisiae)	Other
-1,562	NT5C1A	5'-nucleotidase, cytosolic 1A	Cytoplasm
-1,559	RASD2	RASD family, member 2	Cytoplasm
-1,555	VWA3B	von Willebrand factor A domain containing 3B	Other
-1,554	NOS1	nitric oxide synthase 1 (neuronal)	Cytoplasm
-1,543	PADI2	peptidyl arginine deiminase, type II	Cytoplasm
-1,532	PHKG1	phosphorylase kinase, gamma 1 (muscle)	Cytoplasm
-1,531	2310015B20Rik	RIKEN cDNA 2310015B20 gene	Other
-1,531	MYLK4	myosin light chain kinase family, member 4	Other
-1,529	HS3ST5	heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 5	Cytoplasm
-1,525	LRRC14B	leucine rich repeat containing 14B	Other
-1,516	LRRC38	leucine rich repeat containing 38	Other
-1,513	GDAP1	ganglioside induced differentiation associated protein 1	Cytoplasm
-1,513	TRDN	triadin	Cytoplasm
-1,511	MC5R	melanocortin 5 receptor	Plasma Membrane
-1,508	FBXO32	F-box protein 32	Cytoplasm
-1,493	TTL7	tubulin tyrosine ligase-like family, member 7	Plasma Membrane
-1,471	ASB14	ankyrin repeat and SOCS box containing 14	Other
-1,467	GPD2	glycerol-3-phosphate dehydrogenase 2 (mitochondrial)	Cytoplasm
-1,463	ALPK2	alpha-kinase 2	Other
-1,458	OSBPL6	oxysterol binding protein-like 6	Cytoplasm
-1,448	2310081J21Rik	RIKEN cDNA 2310081J21 gene	Other
-1,448	2310081J21Rik	RIKEN cDNA 2310081J21 gene	Other
-1,448	2310081J21Rik	RIKEN cDNA 2310081J21 gene	Other
-1,448	ASB15	ankyrin repeat and SOCS box containing 15	Nucleus
-1,437	VWA3B	von Willebrand factor A domain containing 3B	Other
-1,433	C3orf43	chromosome 3 open reading frame 43	Other
-1,426	RXRG	retinoid X receptor, gamma	Nucleus
-1,417	RNF128	ring finger protein 128, E3 ubiquitin protein ligase	Cytoplasm
-1,393	ASB11	ankyrin repeat and SOCS box containing 11	Nucleus
-1,393	SLC37A4	solute carrier family 37 (glucose-6-phosphate transporter), member 4	Cytoplasm
-1,385	DUSP26	dual specificity phosphatase 26 (putative)	Cytoplasm
-1,385	SCN4B	sodium channel, voltage-gated, type IV, beta subunit	Plasma Membrane
-1,372	HOOK1	hook microtubule-tethering protein 1	Cytoplasm
-1,348	AMPD1	adenosine monophosphate deaminase 1	Cytoplasm
-1,339	PLA2G7	phospholipase A2, group VII (platelet-activating factor acetylhydrolase, plasma)	Extracellular Space
-1,338	ANKRD9	ankyrin repeat domain 9	Other
-1,324	EEPD1	endonuclease/exonuclease/phosphatase family domain containing 1	Other
-1,305	PDZRN3	PDZ domain containing ring finger 3	Extracellular Space
-1,302	NR4A1	nuclear receptor subfamily 4, group A, member 1	Nucleus

-1,275	CACNG6	calcium channel, voltage-dependent, gamma subunit 6	Plasma Membrane
-1,210	CNTNAP2	contactin associated protein-like 2	Plasma Membrane
1,034	P2RX7	purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 7	Plasma Membrane
1,065	EGR1	early growth response 1	Nucleus
1,087	C14orf37	chromosome 14 open reading frame 37	Extracellular Space
1,102	MFAP5	microfibrillar associated protein 5	Extracellular Space
1,108	CAPG	capping protein (actin filament), gelsolin-like	Nucleus
1,130	TNNT2	troponin T type 2 (cardiac)	Cytoplasm
1,135	MSR1	macrophage scavenger receptor 1	Plasma Membrane
1,135	STEAP4	STEAP family member 4	Plasma Membrane
1,141	ANGPTL1	angiopoietin-like 1	Plasma Membrane
1,141	PLXNB2	plexin B2	Plasma Membrane
1,142	MMP2	matrix metalloproteinase 2 (gelatinase A, 72kDa gelatinase, 72kDa type IV collagenase)	Extracellular Space
1,142	NOX4	NADPH oxidase 4	Cytoplasm
1,146	OCEL1	occludin/ELL domain containing 1	Other
1,154	HGF	hepatocyte growth factor (hepapoietin A; scatter factor)	Extracellular Space
1,165	DSE	dermatan sulfate epimerase	Cytoplasm
1,167	CD80	CD80 molecule	Plasma Membrane
1,173	GPX8	glutathione peroxidase 8 (putative)	Other
1,181	ITGBL1	integrin, beta-like 1 (with EGF-like repeat domains)	Other
1,183	CD300C	CD300c molecule	Plasma Membrane
1,191	LAYN	layilin	Plasma Membrane
1,205	LAT2	linker for activation of T cells family, member 2	Plasma Membrane
1,207	LPXN	leupaxin	Cytoplasm
1,207	MYL4	myosin, light chain 4, alkali; atrial, embryonic	Cytoplasm
1,211	ANXA4	annexin A4	Plasma Membrane
1,226	C3	complement component 3	Extracellular Space
1,230	SELP	selectin P (granule membrane protein 140kDa, antigen CD62)	Plasma Membrane
1,233	RASSF2	Ras association (RalGDS/AF-6) domain family member 2	Nucleus
1,239	CMTM3	CKLF-like MARVEL transmembrane domain containing 3	Extracellular Space
1,240	TMEM176A	transmembrane protein 176A	Other
1,247	CCL21	chemokine (C-C motif) ligand 21	Extracellular Space
1,247	CCL21	chemokine (C-C motif) ligand 21	Extracellular Space
1,247	CCL21	chemokine (C-C motif) ligand 21	Extracellular Space
1,247	CCL21	chemokine (C-C motif) ligand 21	Extracellular Space
1,248	IL1R1	interleukin 1 receptor, type I	Plasma Membrane
1,251	GRN	granulin	Extracellular Space
1,254	MYOF	myoferlin	Nucleus
1,256	DPEP2	dipeptidase 2	Plasma Membrane
1,257	IGFBP4	insulin-like growth factor binding protein 4	Extracellular Space
1,258	C1S	complement component 1, s subcomponent	Extracellular Space
1,261	MMP14	matrix metalloproteinase 14 (membrane-inserted)	Extracellular Space
1,266	CFH	complement factor H	Extracellular Space
1,273	CD14	CD14 molecule	Plasma Membrane
1,281	MYO5A	myosin VA (heavy chain 12, myoxin)	Cytoplasm
1,297	COMP	cartilage oligomeric matrix protein	Extracellular Space
1,303	CA13	carbonic anhydrase XIII	Cytoplasm
1,304	TMEM106A	transmembrane protein 106A	Other
1,306	SOAT1	sterol O-acyltransferase 1	Cytoplasm
1,308	ITGAX	integrin, alpha X (complement component 3 receptor 4 subunit)	Plasma Membrane
1,308	MMP19	matrix metalloproteinase 19	Extracellular Space
1,316	PDGFRL	platelet-derived growth factor receptor-like	Plasma Membrane
1,328	BMPER	BMP binding endothelial regulator	Extracellular Space
1,330	TNMD	tenomodulin	Plasma Membrane
1,333	C1QTNF3	C1q and tumor necrosis factor related protein 3	Extracellular Space
1,333	THBS4	thrombospondin 4	Extracellular Space
1,334	SCN7A	sodium channel, voltage-gated, type VII, alpha subunit	Plasma Membrane
1,336	CEBPA	CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP), alpha	Nucleus
1,336	LOX	lysyl oxidase	Extracellular Space
1,340	CD86	CD86 molecule	Plasma Membrane
1,340	LUM	lumican	Extracellular Space
1,341	LIPA	lipase A, lysosomal acid, cholesterol esterase	Cytoplasm
1,344	CTSH	cathepsin H	Cytoplasm
1,349	A530099J19Rik	RIKEN cDNA A530099J19 gene	Plasma Membrane
1,349	UNC93B1	unc-93 homolog B1 (C, elegans)	Cytoplasm
1,352	CYTH4	cytohesin 4	Cytoplasm
1,352	TMEM173	transmembrane protein 173	Cytoplasm
1,360	Tmsb4x (includes others)	thymosin, beta 4, X chromosome	Cytoplasm
1,363	Gp49a/Lilrb4	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B, member 4	Other
1,363	Tmsb4x (includes others)	thymosin, beta 4, X chromosome	Cytoplasm

	others)		
1,365	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
1,366	CCDC80	coiled-coil domain containing 80	Nucleus
1,366	COL6A3	collagen, type VI, alpha 3	Extracellular Space
1,366	DAB2	Dab, mitogen-responsive phosphoprotein, homolog 2 (Drosophila)	Plasma Membrane
1,366	PDPN	podoplanin	Plasma Membrane
1,373	LCP1	lymphocyte cytosolic protein 1 (L-plastin)	Cytoplasm
1,381	COL8A1	collagen, type VIII, alpha 1	Extracellular Space
1,384	DOCK2	dedicator of cytokinesis 2	Cytoplasm
1,388	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
1,395	P2RY6	pyrimidinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 6	Plasma Membrane
1,402	PLTP	phospholipid transfer protein	Extracellular Space
1,412	Epsti1	epithelial stromal interaction 1 (breast)	Other
1,417	APOE	apolipoprotein E	Extracellular Space
1,418	MYH3	myosin, heavy chain 3, skeletal muscle, embryonic	Cytoplasm
1,418	UGCG	UDP-glucose ceramide glucosyltransferase	Cytoplasm
1,421	ANPEP	alanyl (membrane) aminopeptidase	Plasma Membrane
1,425	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
1,432	IGF2	insulin-like growth factor 2 (somatomedin A)	Extracellular Space
1,432	TUBB6	tubulin, beta 6 class V	Cytoplasm
1,437	LGMN	legumain	Cytoplasm
1,442	SLC9A9	solute carrier family 9, subfamily A (NHE9, cation proton antiporter 9), member 9	Cytoplasm
1,449	TLR1	toll-like receptor 1	Plasma Membrane
1,455	SLC7A10	solute carrier family 7 (neutral amino acid transporter light chain, asc system), member 10	Plasma Membrane
1,456	STAB1	stabilin 1	Plasma Membrane
1,460	COL14A1	collagen, type XIV, alpha 1	Extracellular Space
1,469	CASP4	caspase 4, apoptosis-related cysteine peptidase	Cytoplasm
1,474	CXCL16	chemokine (C-X-C motif) ligand 16	Extracellular Space
1,482	SIGLEC1	sialic acid binding Ig-like lectin 1, sialoadhesin	Plasma Membrane
1,482	SRPX	sushi-repeat containing protein, X-linked	Cytoplasm
1,483	S100A4	S100 calcium binding protein A4	Cytoplasm
1,486	KRT18	keratin 18	Cytoplasm
1,488	CSF2RB	colony stimulating factor 2 receptor, beta, low-affinity (granulocyte-macrophage)	Plasma Membrane
1,488	STAP1	signal transducing adaptor family member 1	Cytoplasm
1,492	CFD	complement factor D (adipsin)	Extracellular Space
1,493	CSF1R	colony stimulating factor 1 receptor	Plasma Membrane
1,494	CD48	CD48 molecule	Plasma Membrane
1,497	P2RX4	purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 4	Plasma Membrane
1,500	RGS10	regulator of G-protein signaling 10	Cytoplasm
1,501	IL13RA1	interleukin 13 receptor, alpha 1	Plasma Membrane
1,505	BCL2A1	BCL2-related protein A1	Cytoplasm
1,505	PDE3B	phosphodiesterase 3B, cGMP-inhibited	Cytoplasm
1,516	Gp49a/Lilrb4	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B, member 4	Other
1,519	COL3A1	collagen, type III, alpha 1	Extracellular Space
1,521	BCL2A1	BCL2-related protein A1	Cytoplasm
1,524	SLAMF7	SLAM family member 7	Plasma Membrane
1,525	HPGDS	hematopoietic prostaglandin D synthase	Cytoplasm
1,527	RUNX1	runt-related transcription factor 1	Nucleus
1,531	HPSE	heparanase	Plasma Membrane
1,544	HLA-DQB1	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1	Plasma Membrane
1,546	NCKAP1L	NCK-associated protein 1-like	Plasma Membrane
1,548	RRAD	Ras-related associated with diabetes	Cytoplasm
1,548	TMEM176B	transmembrane protein 176B	Other
1,549	HLA-DRB1	major histocompatibility complex, class II, DR beta 1	Plasma Membrane
1,550	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
1,559	SVEP1	sushi, von Willebrand factor type A, EGF and pentraxin domain containing 1	Cytoplasm
1,562	C4A/C4B	complement component 4B (Chido blood group)	Extracellular Space
1,567	PLD4	phospholipase D family, member 4	Extracellular Space
1,568	TYROBP	TYRO protein tyrosine kinase binding protein	Plasma Membrane
1,569	Ces1f	carboxylesterase 1F	Cytoplasm
1,587	PCK1	phosphoenolpyruvate carboxykinase 1 (soluble)	Cytoplasm
1,589	Ms4a6c	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6C	Other
1,620	APOL3/APOL4	apolipoprotein L, 4	Other
1,628	Cd52	CD52 antigen	Other

1,634	BCL2A1	BCL2-related protein A1	Cytoplasm
1,641	CSF2RB	colony stimulating factor 2 receptor, beta, low-affinity (granulocyte-macrophage)	Plasma Membrane
1,641	LAPTM5	lysosomal protein transmembrane 5	Plasma Membrane
1,641	PTPRC	protein tyrosine phosphatase, receptor type, C	Plasma Membrane
1,647	MS4A14	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 14	Other
1,648	Clec4a1	C-type lectin domain family 4, member a1	Other
1,652	Ccl9	chemokine (C-C motif) ligand 9	Extracellular Space
1,666	HLA-DMB	major histocompatibility complex, class II, DM beta	Plasma Membrane
1,667	COL6A5	collagen, type VI, alpha 5	Extracellular Space
1,672	CLEC6A	C-type lectin domain family 6, member A	Plasma Membrane
1,677	TMEM8C	transmembrane protein 8C	Plasma Membrane
1,678	APOBEC1	apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide 1	Cytoplasm
1,685	CD300LD	CD300 molecule-like family member d	Plasma Membrane
1,694	EMB	embigin	Plasma Membrane
1,708	CD300LD	CD300 molecule-like family member d	Plasma Membrane
1,715	IFI27L2	interferon, alpha-inducible protein 27-like 2	Other
1,717	FCGR2B	Fc fragment of IgG, low affinity IIb, receptor (CD32)	Plasma Membrane
1,718	IFI30	interferon, gamma-inducible protein 30	Cytoplasm
1,721	Ccl6	chemokine (C-C motif) ligand 6	Extracellular Space
1,722	CCR5	chemokine (C-C motif) receptor 5 (gene/pseudogene)	Plasma Membrane
1,722	CCR5	chemokine (C-C motif) receptor 5 (gene/pseudogene)	Plasma Membrane
1,723	Fcrls	Fc receptor-like S, scavenger receptor	Plasma Membrane
1,724	CFB	complement factor B	Extracellular Space
1,745	MT1E	metallothionein 1E	Cytoplasm
1,752	CD72	CD72 molecule	Plasma Membrane
1,754	PCBD1	pterin-4 alpha-carbinolamine dehydratase/dimerization cofactor of hepatocyte nuclear factor 1 alpha	Nucleus
1,769	MRC1	mannose receptor, C type 1	Plasma Membrane
1,779	CCL7	chemokine (C-C motif) ligand 7	Extracellular Space
1,783	CILP	cartilage intermediate layer protein, nucleotide pyrophosphohydrolase	Extracellular Space
1,784	PLA2G2D	phospholipase A2, group IID	Extracellular Space
1,792	HLA-DQA1	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1	Plasma Membrane
1,803	CD74	CD74 molecule, major histocompatibility complex, class II invariant chain	Plasma Membrane
1,804	IL7R	interleukin 7 receptor	Plasma Membrane
1,808	Clec4a3	C-type lectin domain family 4, member a3	Other
1,808	Nxpe5	neurexophilin and PC-esterase domain family, member 5	Other
1,809	CD53	CD53 molecule	Plasma Membrane
1,810	C1QA	complement component 1, q subcomponent, A chain	Extracellular Space
1,815	MS4A4A	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 4A	Other
1,831	PRUNE2	prune homolog 2 (Drosophila)	Other
1,852	PRUNE2	prune homolog 2 (Drosophila)	Other
1,858	IGHM	immunoglobulin heavy constant mu	Plasma Membrane
1,860	FBLN7	fibulin 7	Extracellular Space
1,861	Mcpt4	mast cell protease 4	Other
1,870	CD180	CD180 molecule	Plasma Membrane
1,887	BANK1	B-cell scaffold protein with ankyrin repeats 1	Extracellular Space
1,888	CPA3	carboxypeptidase A3 (mast cell)	Extracellular Space
1,903	MFAP4	microfibrillar-associated protein 4	Extracellular Space
1,906	C1QB	complement component 1, q subcomponent, B chain	Extracellular Space
1,941	LGALS3	lectin, galactoside-binding, soluble, 3	Extracellular Space
1,942	C1QC	complement component 1, q subcomponent, C chain	Extracellular Space
1,953	ANKRD1	ankyrin repeat domain 1 (cardiac muscle)	Cytoplasm
1,965	MPEG1	macrophage expressed 1	Cytoplasm
1,970	POSTN	periostin, osteoblast specific factor	Extracellular Space
1,980	CCL5	chemokine (C-C motif) ligand 5	Extracellular Space
1,998	EMR1	egf-like module containing, mucin-like, hormone receptor-like 1	Plasma Membrane
1,998	IL2RG	interleukin 2 receptor, gamma	Plasma Membrane
2,047	Ms4a6b	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6B	Other
2,057	GLIPR1	GLI pathogenesis-related 1	Extracellular Space
2,058	CD68	CD68 molecule	Plasma Membrane
2,069	CD3G	CD3g molecule, gamma (CD3-TCR complex)	Plasma Membrane
2,071	GNPMB	glycoprotein (transmembrane) nmb	Plasma Membrane
2,085	LY86	lymphocyte antigen 86	Plasma Membrane
2,103	HP	haptoglobin	Extracellular Space
2,128	MMP3	matrix metalloproteinase 3 (stromelysin 1, progelatinase)	Extracellular Space
2,160	Wfdc17	WAP four-disulfide core domain 17	Other
2,189	VSIG4	V-set and immunoglobulin domain containing 4	Plasma Membrane
2,207	MMP12	matrix metalloproteinase 12 (macrophage elastase)	Extracellular Space
2,208	BAIAP2L1	BAI1-associated protein 2-like 1	Cytoplasm

2,226	Snord53	small nucleolar RNA, C/D box 53	Other
2,277	SFRP1	secreted frizzled-related protein 1	Plasma Membrane
2,351	MS4A6A	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6A	Other
2,351	MS4A7	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 7	Other
2,390	TIMP1	TIMP metalloproteinase inhibitor 1	Extracellular Space
2,424	MT1H	metallothionein 1H	Other
2,464	CTSS	cathepsin S	Cytoplasm
2,555	CXCL13	chemokine (C-X-C motif) ligand 13	Extracellular Space
2,651	C3AR1	complement component 3a receptor 1	Plasma Membrane
2,655	SERPINA3	serpin peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antitrypsin), member 3	Extracellular Space
2,932	HAL	histidine ammonia-lyase	Cytoplasm
3,937	Ccl8	chemokine (C-C motif) ligand 8	Extracellular Space
4,256	Glycam1	glycosylation dependent cell adhesion molecule 1	Plasma Membrane
5,517	HLA-DRA	major histocompatibility complex, class II, DR alpha	Plasma Membrane

<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-} vs C57BL 6 meses</i>			
Fold Change	Symbol	Entrez Gene Name	Location
-5,225	XIST	X inactive specific transcript (non-protein coding)	Nucleus
-4,007	OSTN	osteocrin	Extracellular Space
-2,338	METTL11B	methyltransferase like 11B	Other
-2,328	MSTN	myostatin	Extracellular Space
-2,266	ASB4	ankyrin repeat and SOCS box containing 4	Nucleus
-2,167	NOS1	nitric oxide synthase 1 (neuronal)	Cytoplasm
-2,132	CYP4F22	cytochrome P450, family 4, subfamily F, polypeptide 22	Extracellular Space
-2,114	CHAC1	ChaC, cation transport regulator homolog 1 (E. coli)	Cytoplasm
-2,096	PPP1R1A	protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 1A	Cytoplasm
-2,025	MC5R	melanocortin 5 receptor	Plasma Membrane
-2,015	LARGE	like-glycosyltransferase	Cytoplasm
-1,963	MSS51	MSS51 mitochondrial translational activator	Other
-1,962	PTTG1	pituitary tumor-transforming 1	Nucleus
-1,914	PFKFB3	6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase 3	Cytoplasm
-1,891	PLCD4	phospholipase C, delta 4	Cytoplasm
-1,861	HS3ST5	heparan sulfate (glucosamine) 3-O-sulfotransferase 5	Cytoplasm
-1,858	ASB2	ankyrin repeat and SOCS box containing 2	Nucleus
1,264	SULF2	sulfatase 2	Plasma Membrane
1,286	CTSK	cathepsin K	Cytoplasm
1,289	TGFB1	transforming growth factor, beta-induced, 68kDa	Extracellular Space
1,293	IGSF6	immunoglobulin superfamily, member 6	Plasma Membrane
1,309	TLR4	toll-like receptor 4	Plasma Membrane
1,310	SCPEP1	serine carboxypeptidase 1	Cytoplasm
1,316	CMTM3	CKLF-like MARVEL transmembrane domain containing 3	Extracellular Space
1,323	SCN7A	sodium channel, voltage-gated, type VII, alpha subunit	Plasma Membrane
1,325	CD14	CD14 molecule	Plasma Membrane
1,326	MMP2	matrix metalloproteinase 2 (gelatinase A, 72kDa gelatinase, 72kDa type IV collagenase)	Extracellular Space
1,328	PAMR1	peptidase domain containing associated with muscle regeneration 1	Extracellular Space
1,337	PLXNB2	plexin B2	Plasma Membrane
1,338	ATP8B1	ATPase, aminophospholipid transporter, class I, type 8B, member 1	Plasma Membrane
1,339	CFH	complement factor H	Extracellular Space
1,339	EMP3	epithelial membrane protein 3	Plasma Membrane
1,342	CCDC80	coiled-coil domain containing 80	Nucleus
1,346	COL6A5	collagen, type VI, alpha 5	Extracellular Space
1,348	EGFR	epidermal growth factor receptor	Plasma Membrane
1,352	SMIM3	small integral membrane protein 3	Other
1,362	B4GALT6	UDP-Gal:betaGlcNAc beta 1,4- galactosyltransferase, polypeptide 6	Cytoplasm
1,367	CYSLTR1	cysteinyl leukotriene receptor 1	Plasma Membrane
1,371	C1R	complement component 1, r subcomponent	Extracellular Space
1,380	ITGAM	integrin, alpha M (complement component 3 receptor 3 subunit)	Plasma Membrane
1,382	LITAF	lipopolysaccharide-induced TNF factor	Nucleus
1,386	C1S	complement component 1, s subcomponent	Extracellular Space
1,389	AW551984	expressed sequence AW551984	Other
1,390	OCEL1	occludin/ELL domain containing 1	Other
1,390	PDGFRL	platelet-derived growth factor receptor-like	Plasma Membrane
1,394	CCDC141	coiled-coil domain containing 141	Other
1,395	PEG3	paternally expressed 3	Nucleus
1,397	PROS1	protein S (alpha)	Extracellular Space
1,399	CA13	carbonic anhydrase XIII	Cytoplasm
1,399	MFAP5	microfibrillar associated protein 5	Extracellular Space
1,403	CAPG	capping protein (actin filament), gelsolin-like	Nucleus
1,405	TNFRSF1B	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1B	Plasma Membrane
1,406	Pira11	paired-Ig-like receptor A11	Other
1,407	Bcl2a1c	B cell leukemia/lymphoma 2 related protein A1c	Other
1,408	IL1RL2	interleukin 1 receptor-like 2	Plasma Membrane
1,411	LUM	lumican	Extracellular Space
1,414	LACC1	laccase (multicopper oxidoreductase) domain containing 1	Other
1,414	RAB31	RAB31, member RAS oncogene family	Cytoplasm
1,415	TBXAS1	thromboxane A synthase 1 (platelet)	Plasma Membrane
1,419	ITGB2	integrin, beta 2 (complement component 3 receptor 3 and 4 subunit)	Plasma Membrane
1,422	ALDH1A2	aldehyde dehydrogenase 1 family, member A2	Cytoplasm
1,425	DSE	dermatan sulfate epimerase	Cytoplasm
1,428	CCDC109B	coiled-coil domain containing 109B	Cytoplasm
1,429	ECM1	extracellular matrix protein 1	Extracellular Space
1,429	Ifi204 (includes	interferon activated gene 204	Nucleus

	others)		
1,430	SIRPA	signal-regulatory protein alpha	Plasma Membrane
1,431	A930003A15Rik	RIKEN cDNA A930003A15 gene	Other
1,432	MEDAG	mesenteric estrogen-dependent adipogenesis	Cytoplasm
1,433	OSMR	oncostatin M receptor	Plasma Membrane
1,435	CYBA	cytochrome b-245, alpha polypeptide	Cytoplasm
1,435	FN1	fibronectin 1	Extracellular Space
1,436	Cd52	CD52 antigen	Other
1,440	CD302	CD302 molecule	Plasma Membrane
1,441	CLEC12A	C-type lectin domain family 12, member A	Plasma Membrane
1,442	Ms4a4b (includes others)	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 4B	Plasma Membrane
1,454	PF4	platelet factor 4	Extracellular Space
1,457	CYBB	cytochrome b-245, beta polypeptide	Cytoplasm
1,462	GRN	granulin	Extracellular Space
1,463	ALOX5AP	arachidonate 5-lipoxygenase-activating protein	Plasma Membrane
1,463	FOLR2	folate receptor 2 (fetal)	Plasma Membrane
1,465	BST1	bone marrow stromal cell antigen 1	Plasma Membrane
1,466	AIF1L	allograft inflammatory factor 1-like	Plasma Membrane
1,466	RASGEF1B	RasGEF domain family, member 1B	Other
1,468	LCP1	lymphocyte cytosolic protein 1 (L-plastin)	Cytoplasm
1,469	PLEKHO1	pleckstrin homology domain containing, family O member 1	Plasma Membrane
1,475	IFI27L2	interferon, alpha-inducible protein 27-like 2	Other
1,476	UGCG	UDP-glucose ceramide glucosyltransferase	Cytoplasm
1,477	CLEC4D	C-type lectin domain family 4, member D	Plasma Membrane
1,478	THBS4	thrombospondin 4	Extracellular Space
1,479	NCAM1	neural cell adhesion molecule 1	Plasma Membrane
1,481	C14orf37	chromosome 14 open reading frame 37	Extracellular Space
1,484	P4HA3	prolyl 4-hydroxylase, alpha polypeptide III	Other
1,489	RENBP	renin binding protein	Other
1,494	TMEM176B	transmembrane protein 176B	Other
1,495	APOE	apolipoprotein E	Extracellular Space
1,495	RGS1	regulator of G-protein signaling 1	Plasma Membrane
1,496	TUBB2B	tubulin, beta 2B class IIb	Cytoplasm
1,499	ANXA1	annexin A1	Plasma Membrane
1,499	CSTB	cystatin B (stefin B)	Cytoplasm
1,499	TM6SF1	transmembrane 6 superfamily member 1	Plasma Membrane
1,503	FCGR1A	Fc fragment of IgG, high affinity Ia, receptor (CD64)	Plasma Membrane
1,503	PTPRC	protein tyrosine phosphatase, receptor type, C	Plasma Membrane
1,505	TMEM173	transmembrane protein 173	Cytoplasm
1,508	PLEK	pleckstrin	Cytoplasm
1,519	ANXA4	annexin A4	Plasma Membrane
1,527	HGF	hepatocyte growth factor (hepapoietin A; scatter factor)	Extracellular Space
1,530	SLC25A24	solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; phosphate carrier), member 24	Cytoplasm
1,532	CXCL14	chemokine (C-X-C motif) ligand 14	Extracellular Space
1,536	SERPINE1	serpin peptidase inhibitor, clade E (nexin, plasminogen activator inhibitor type 1), member 1	Extracellular Space
1,537	MCOLN2	mucolipin 2	Plasma Membrane
1,538	CTHRC1	collagen triple helix repeat containing 1	Extracellular Space
1,540	UNC93B1	unc-93 homolog B1 (C, elegans)	Cytoplasm
1,543	LAT2	linker for activation of T cells family, member 2	Plasma Membrane
1,549	CFB	complement factor B	Extracellular Space
1,549	CLEC10A	C-type lectin domain family 10, member A	Plasma Membrane
1,552	RASSF4	Ras association (RalGDS/AF-6) domain family member 4	Other
1,561	IL1R1	interleukin 1 receptor, type I	Plasma Membrane
1,562	COL6A3	collagen, type VI, alpha 3	Extracellular Space
1,563	CSF2RB	colony stimulating factor 2 receptor, beta, low-affinity (granulocyte-macrophage)	Plasma Membrane
1,564	PLTP	phospholipid transfer protein	Extracellular Space
1,565	PTAFR	platelet-activating factor receptor	Plasma Membrane
1,575	CD44	CD44 molecule (Indian blood group)	Plasma Membrane
1,577	CD180	CD180 molecule	Plasma Membrane
1,582	LAIR1	leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor 1	Plasma Membrane
1,582	Lyz1/Lyz2	lysozyme 2	Cytoplasm
1,582	MYO5A	myosin VA (heavy chain 12, myoxin)	Cytoplasm
1,583	Tmsb4x (includes others)	thymosin, beta 4, X chromosome	Cytoplasm
1,583	Tmsb4x (includes others)	thymosin, beta 4, X chromosome	Cytoplasm
1,584	PLAC8	placenta-specific 8	Nucleus
1,587	CYTH4	cytohesin 4	Cytoplasm

1,802	TYROBP	TYRO protein tyrosine kinase binding protein	Plasma Membrane
1,815	ADAM8	ADAM metalloproteinase domain 8	Plasma Membrane
1,822	Olf1372-ps1	olfactory receptor 1372, pseudogene 1	Other
1,824	FYB	FYN binding protein	Nucleus
1,826	FGL2	fibrinogen-like 2	Extracellular Space
1,829	NCKAP1L	NCK-associated protein 1-like	Plasma Membrane
1,839	5430435G22Rik	RIKEN cDNA 5430435G22 gene	Cytoplasm
1,840	PLD4	phospholipase D family, member 4	Extracellular Space
1,843	P2RX4	purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 4	Plasma Membrane
1,846	Ccl2	chemokine (C-C motif) ligand 2	Extracellular Space
1,853	LGMN	legumain	Cytoplasm
1,855	VCAN	versican	Extracellular Space
1,856	MYL4	myosin, light chain 4, alkali; atrial, embryonic	Cytoplasm
1,865	HLA-DQA1	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1	Plasma Membrane
1,866	CASP4	caspase 4, apoptosis-related cysteine peptidase	Cytoplasm
1,867	IFI30	interferon, gamma-inducible protein 30	Cytoplasm
1,871	GPR65	G protein-coupled receptor 65	Plasma Membrane
1,873	CD74	CD74 molecule, major histocompatibility complex, class II invariant chain	Plasma Membrane
1,873	CSF1R	colony stimulating factor 1 receptor	Plasma Membrane
1,878	PDPN	podoplanin	Plasma Membrane
1,879	IL7R	interleukin 7 receptor	Plasma Membrane
1,882	IGF2	insulin-like growth factor 2 (somatomedin A)	Extracellular Space
1,892	CD300LD	CD300 molecule-like family member d	Plasma Membrane
1,895	BCL2A1	BCL2-related protein A1	Cytoplasm
1,903	CD300C	CD300c molecule	Plasma Membrane
1,908	COL8A1	collagen, type VIII, alpha 1	Extracellular Space
1,909	HLA-DQB1	major histocompatibility complex, class II, DQ beta 1	Plasma Membrane
1,913	Fcrls	Fc receptor-like S, scavenger receptor	Plasma Membrane
1,914	CD300LD	CD300 molecule-like family member d	Plasma Membrane
1,916	HP	haptoglobin	Extracellular Space
1,925	C4A/C4B	complement component 4B (Chido blood group)	Extracellular Space
1,932	SOAT1	sterol O-acyltransferase 1	Cytoplasm
1,935	BCL2A1	BCL2-related protein A1	Cytoplasm
1,938	C5AR1	complement component 5a receptor 1	Plasma Membrane
1,965	CLEC6A	C-type lectin domain family 6, member A	Plasma Membrane
1,970	Nxpe5	neurexophilin and PC-esterase domain family, member 5	Other
1,971	RUNX1	runt-related transcription factor 1	Nucleus
1,991	HPGDS	hematopoietic prostaglandin D synthase	Cytoplasm
1,998	CD53	CD53 molecule	Plasma Membrane
1,998	CTSH	cathepsin H	Cytoplasm
1,999	MSR1	macrophage scavenger receptor 1	Plasma Membrane
1,999	S100A4	S100 calcium binding protein A4	Cytoplasm
2,005	BCL2A1	BCL2-related protein A1	Cytoplasm
2,012	DPEP2	dipeptidase 2	Plasma Membrane
2,012	ITGAX	integrin, alpha X (complement component 3 receptor 4 subunit)	Plasma Membrane
2,013	CXCL16	chemokine (C-X-C motif) ligand 16	Extracellular Space
2,024	CD300LD	CD300 molecule-like family member d	Plasma Membrane
2,059	TNNI2	troponin T type 2 (cardiac)	Cytoplasm
2,061	P2RY6	pyrimidinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 6	Plasma Membrane
2,065	IL13RA1	interleukin 13 receptor, alpha 1	Plasma Membrane
2,070	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
2,087	GAL	galanin/GMAP prepropeptide	Extracellular Space
2,101	CCR2	chemokine (C-C motif) receptor 2	Plasma Membrane
2,134	SLAMF7	SLAM family member 7	Plasma Membrane
2,141	TUBB6	tubulin, beta 6 class V	Cytoplasm
2,149	CILP	cartilage intermediate layer protein, nucleotide pyrophosphohydrolase	Extracellular Space
2,149	Lyz1/Lyz2	lysozyme 2	Cytoplasm
2,155	FCGR3A	Fc fragment of IgG, low affinity IIIa, receptor (CD16a)	Plasma Membrane
2,170	EMB	embigin	Plasma Membrane
2,200	Gp49a/Lilrb4	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B, member 4	Other
2,201	FCGR2A	Fc fragment of IgG, low affinity IIa, receptor (CD32)	Plasma Membrane
2,205	APOBEC1	apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide 1	Cytoplasm
2,205	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
2,216	MRC1	mannose receptor, C type 1	Plasma Membrane
2,237	CD84	CD84 molecule	Plasma Membrane
2,247	FBLN7	fibulin 7	Extracellular Space
2,260	Ms4a6c	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6C	Other
2,279	Tlr13	toll-like receptor 13	Cytoplasm

2,296	Ifi204 (includes others)	interferon activated gene 204	Nucleus
2,306	MMP19	matrix metallopeptidase 19	Extracellular Space
2,314	C1QA	complement component 1, q subcomponent, A chain	Extracellular Space
2,317	TMEM8C	transmembrane protein 8C	Plasma Membrane
2,336	POSTN	periostin, osteoblast specific factor	Extracellular Space
2,347	CCL3L1/CCL3L3	chemokine (C-C motif) ligand 3-like 1	Extracellular Space
2,390	C1QC	complement component 1, q subcomponent, C chain	Extracellular Space
2,391	LY86	lymphocyte antigen 86	Plasma Membrane
2,395	C1QB	complement component 1, q subcomponent, B chain	Extracellular Space
2,398	CCL7	chemokine (C-C motif) ligand 7	Extracellular Space
2,416	ATP6V0D2	ATPase, H+ transporting, lysosomal 38kDa, V0 subunit d2	Cytoplasm
2,426	MT1E	metallothionein 1E	Cytoplasm
2,438	RRAD	Ras-related associated with diabetes	Cytoplasm
2,447	Ms4a6b	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6B	Other
2,448	PRUNE2	prune homolog 2 (Drosophila)	Other
2,463	PRUNE2	prune homolog 2 (Drosophila)	Other
2,472	Ccl9	chemokine (C-C motif) ligand 9	Extracellular Space
2,476	Wfdc17	WAP four-disulfide core domain 17	Other
2,480	MS4A14	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 14	Other
2,481	FCGR2B	Fc fragment of IgG, low affinity IIB, receptor (CD32)	Plasma Membrane
2,507	CCR5	chemokine (C-C motif) receptor 5 (gene/pseudogene)	Plasma Membrane
2,507	CCR5	chemokine (C-C motif) receptor 5 (gene/pseudogene)	Plasma Membrane
2,522	Gp49a/Lilrb4	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B, member 4	Other
2,545	Clec4a1	C-type lectin domain family 4, member a1	Other
2,568	SFRP1	secreted frizzled-related protein 1	Plasma Membrane
2,586	Ccl6	chemokine (C-C motif) ligand 6	Extracellular Space
2,589	CD68	CD68 molecule	Plasma Membrane
2,606	MPEG1	macrophage expressed 1	Cytoplasm
2,609	C1QTNF3	C1q and tumor necrosis factor related protein 3	Extracellular Space
2,647	LGALS3	lectin, galactoside-binding, soluble, 3	Extracellular Space
2,652	EMR1	egf-like module containing, mucin-like, hormone receptor-like 1	Plasma Membrane
2,674	Clec4a3	C-type lectin domain family 4, member a3	Other
2,720	PCBD1	pterin-4 alpha-carbinolamine dehydratase/dimerization cofactor of hepatocyte nuclear factor 1 alpha	Nucleus
2,764	MMP3	matrix metallopeptidase 3 (stromelysin 1, progelatinase)	Extracellular Space
2,773	MT1H	metallothionein 1H	Other
2,880	PRG4	proteoglycan 4	Extracellular Space
2,893	ANKRD1	ankyrin repeat domain 1 (cardiac muscle)	Cytoplasm
2,966	C7	complement component 7	Extracellular Space
2,969	MYH3	myosin, heavy chain 3, skeletal muscle, embryonic	Cytoplasm
2,990	VSIG4	V-set and immunoglobulin domain containing 4	Plasma Membrane
3,054	GNPMB	glycoprotein (transmembrane) nmb	Plasma Membrane
3,092	CTSS	cathepsin S	Cytoplasm
3,147	GLIPR1	GLI pathogenesis-related 1	Extracellular Space
3,175	SERPINA3	serpin peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 3	Extracellular Space
3,179	AKR1E2	aldo-keto reductase family 1, member E2	Cytoplasm
3,223	MS4A4A	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 4A	Other
3,274	MS4A7	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 7	Other
3,385	TIMP1	TIMP metallopeptidase inhibitor 1	Extracellular Space
3,400	C3AR1	complement component 3a receptor 1	Plasma Membrane
3,627	HAL	histidine ammonia-lyase	Cytoplasm
3,707	MS4A6A	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 6A	Other
3,726	MMP12	matrix metallopeptidase 12 (macrophage elastase)	Extracellular Space
4,330	Ccl8	chemokine (C-C motif) ligand 8	Extracellular Space

<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-} vs Dmd^{mdx} 6 meses</i>			
Fold Change	Symbol	Entrez Gene Name	Location
-1,933	LARGE	like-glycosyltransferase	Cytoplasm
-1,600	MC5R	melanocortin 5 receptor	Plasma Membrane
-1,578	CHAC1	ChaC, cation transport regulator homolog 1 (E, coli)	Cytoplasm
-1,437	PFKFB3	6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase 3	Cytoplasm
-1,391	PLCD4	phospholipase C, delta 4	Cytoplasm
-1,252	SH3RF2	SH3 domain containing ring finger 2	Extracellular Space
-1,217	MSS51	MSS51 mitochondrial translational activator	Other
-1,200	LRTM1	leucine-rich repeats and transmembrane domains 1	Other
-1,168	ASB15	ankyrin repeat and SOCS box containing 15	Nucleus
-1,165	METTL11B	methyltransferase like 11B	Other
-1,150	NT5C1A	5'-nucleotidase, cytosolic IA	Cytoplasm
-1,130	HRASLS	HRAS-like suppressor	Cytoplasm
-1,085	MYLK4	myosin light chain kinase family, member 4	Other
-1,078	2310081J21Rik	RIKEN cDNA 2310081J21 gene	Other
-1,078	2310081J21Rik	RIKEN cDNA 2310081J21 gene	Other
-1,078	2310081J21Rik	RIKEN cDNA 2310081J21 gene	Other
-1,049	2310015B20Rik	RIKEN cDNA 2310015B20 gene	Other
-1,049	GADD45GIP1	growth arrest and DNA-damage-inducible, gamma interacting protein 1	Nucleus
-1,033	LRRC38	leucine rich repeat containing 38	Other
-1,016	PLD5	phospholipase D family, member 5	Other
-0,991	VWA3B	von Willebrand factor A domain containing 3B	Other
-0,99	SLC37A4	solute carrier family 37 (glucose-6-phosphate transporter), member 4	Cytoplasm
-0,919	PHKG1	phosphorylase kinase, gamma 1 (muscle)	Cytoplasm
-0,891	4930503E14Rik (includes others)	RIKEN cDNA D830030K20 gene	Other
-0,891	4930503E14Rik (includes others)	RIKEN cDNA D830030K20 gene	Other
0,973	Nxpe5	neurexophilin and PC-esterase domain family, member 5	Other
1,010	COL6A5	collagen, type VI, alpha 5	Extracellular Space
1,088	PIANP	PILR alpha associated neural protein	Other
1,205	MT1E	metallothionein 1E	Cytoplasm
1,226	SFRP1	secreted frizzled-related protein 1	Plasma Membrane
1,300	OCEL1	occludin/ELL domain containing 1	Other
1,344	LYVE1	lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor 1	Plasma Membrane
1,392	Ccl8	chemokine (C-C motif) ligand 8	Extracellular Space
1,507	RRAD	Ras-related associated with diabetes	Cytoplasm
2,764	VSIG4	V-set and immunoglobulin domain containing 4	Plasma Membrane
3,519	HAL	histidine ammonia-lyase	Cytoplasm

Dmd ^{mdx} /Large ^{myd/-} vs Large ^{myd} 6 meses			
Fold Change	Symbol	Entrez Gene Name	Location
-1,450	PTTG1	pituitary tumor-transforming 1	Nucleus
0,557	C5AR2	complement component 5a receptor 2	Plasma Membrane
0,585	APOC2	apolipoprotein C-II	Extracellular Space
0,617	SMIM3	small integral membrane protein 3	Other
0,729	MS4A14	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 14	Other
0,731	NFIL3	nuclear factor, interleukin 3 regulated	Nucleus
0,753	SLC22A4	solute carrier family 22 (organic cation/zwitterion transporter), member 4	Plasma Membrane
0,764	METTL15	methyltransferase like 15	Other
0,825	GLIPR1	GLI pathogenesis-related 1	Extracellular Space
0,836	ERRFI1	ERBB receptor feedback inhibitor 1	Cytoplasm
0,905	ARL14EP	ADP-ribosylation factor-like 14 effector protein	Other
1,220	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,278	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,278	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,278	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,278	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,278	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,278	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,278	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,278	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,278	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,278	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,278	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,278	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,278	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,278	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,278	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,278	Snord116	small nucleolar RNA, C/D box 116	Other
1,509	Olfr1372-ps1	olfactory receptor 1372, pseudogene 1	Other
1,560	Zfp125	zinc finger protein 125	Nucleus
1,633	PRG4	proteoglycan 4	Extracellular Space

B. Classificação funcional de acordo com funções do Gene Ontology

<i>Dmd^{mdx}</i> vs C57BL 21 dias				
Termo GO	# genes	p-valor	FDR	
GO:0009611~response to wounding	57	1.26E-22	2.19E-19	
GO:0006954~inflammatory response	44	1.80E-20	3.14E-17	
GO:0006952~defense response	60	2.60E-19	4.52E-16	
GO:0000087~M phase of mitotic cell cycle	34	2.24E-14	3.90E-11	
GO:0005764~lysosome	33	2.47E-14	3.25E-11	
GO:0000323~lytic vacuole	33	2.90E-14	3.82E-11	
GO:0007067~mitosis	33	7.49E-14	1.30E-10	
GO:0000280~nuclear division	33	7.49E-14	1.30E-10	
GO:0051301~cell division	40	9.26E-14	1.61E-10	
GO:0000279~M phase	40	1.17E-13	2.03E-10	
GO:0001775~cell activation	37	1.70E-13	2.95E-10	
GO:0048285~organelle fission	33	2.11E-13	3.68E-10	
GO:0000278~mitotic cell cycle	36	6.80E-13	1.18E-09	
GO:0022403~cell cycle phase	42	7.29E-13	1.27E-09	
GO:0005773~vacuole	33	1.23E-12	1.62E-09	
GO:0042330~taxis	24	2.05E-12	3.56E-09	
GO:0006935~chemotaxis	24	2.05E-12	3.56E-09	
GO:0022402~cell cycle process	45	4.72E-12	8.22E-09	
GO:0007049~cell cycle	58	5.81E-12	1.01E-08	
GO:0045321~leukocyte activation	32	2.08E-11	3.63E-08	
GO:0030246~carbohydrate binding	38	2.77E-11	4.12E-08	
GO:0000775~chromosome, centromeric region	23	4.09E-11	5.38E-08	
GO:0002252~immune effector process	24	4.77E-11	8.30E-08	
GO:0044427~chromosomal part	38	1.89E-10	2.49E-07	
GO:0005694~chromosome	41	6.03E-10	7.94E-07	
GO:0007626~locomotory behavior	31	8.86E-10	1.54E-06	
GO:0002274~myeloid leukocyte activation	13	1.01E-09	1.75E-06	
GO:0009986~cell surface	35	3.27E-09	4.31E-06	
GO:0002443~leukocyte mediated immunity	18	8.03E-09	1.40E-05	
GO:0000779~condensed chromosome, centromeric region	15	1.65E-08	2.18E-05	
GO:0045087~innate immune response	19	2.37E-08	4.13E-05	
GO:0000793~condensed chromosome	19	3.72E-08	4.90E-05	
GO:0001871~pattern binding	20	4.52E-08	6.72E-05	
GO:0030247~polysaccharide binding	20	4.52E-08	6.72E-05	
GO:0006909~phagocytosis	13	7.17E-08	1.25E-04	
GO:0009897~external side of plasma membrane	26	7.97E-08	1.05E-04	
GO:0002460~adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	16	1.56E-07	2.72E-04	
GO:0002250~adaptive immune response	16	1.56E-07	2.72E-04	
GO:0048002~antigen processing and presentation of peptide antigen	11	1.84E-07	3.21E-04	
GO:0050778~positive regulation of immune response	20	2.10E-07	3.66E-04	
GO:0000777~condensed chromosome kinetochore	13	2.52E-07	3.32E-04	
GO:0019724~B cell mediated immunity	14	2.66E-07	4.64E-04	
GO:0002449~lymphocyte mediated immunity	15	2.71E-07	4.72E-04	
GO:0008009~chemokine activity	11	3.13E-07	4.66E-04	
GO:0006323~DNA packaging	17	3.37E-07	5.87E-04	
GO:0042379~chemokine receptor binding	11	4.09E-07	6.08E-04	
GO:0007610~behavior	36	5.69E-07	9.90E-04	
GO:0050830~defense response to Gram-positive bacterium	9	5.89E-07	0.001026	
GO:0002478~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen	9	5.89E-07	0.001026	
GO:0002684~positive regulation of immune system process	24	7.12E-07	0.001239	
GO:0006665~sphingolipid metabolic process	13	1.12E-06	0.001944	
GO:0005539~glycosaminoglycan binding	17	1.14E-06	0.001695	
GO:0019955~cytokine binding	15	1.15E-06	0.001711	
GO:0016064~immunoglobulin mediated immune response	13	1.34E-06	0.002327	
GO:0000776~kinetochore	13	1.53E-06	0.002011	

GO:0045807~positive regulation of endocytosis	10	1.56E-06	0.002723
GO:0006643~membrane lipid metabolic process	13	1.60E-06	0.002776
GO:0060326~cell chemotaxis	9	2.36E-06	0.004111
GO:0030595~leukocyte chemotaxis	9	2.36E-06	0.004111
GO:0006672~ceramide metabolic process	10	2.64E-06	0.004596
GO:0046649~lymphocyte activation	22	2.77E-06	0.004825
GO:0019884~antigen processing and presentation of exogenous antigen	9	3.21E-06	0.005582
GO:0046519~sphingoid metabolic process	10	4.30E-06	0.007484
GO:0051130~positive regulation of cellular component organization	17	4.46E-06	0.007767
GO:0048584~positive regulation of response to stimulus	21	6.71E-06	0.011682
GO:0050766~positive regulation of phagocytosis	8	8.46E-06	0.014724
GO:0007018~microtubule-based movement	15	9.21E-06	0.016021
GO:0002495~antigen processing and presentation of peptide antigen via MHC class II	7	9.77E-06	0.016995
GO:0019886~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class II	7	9.77E-06	0.016995
GO:0046651~lymphocyte proliferation	10	1.04E-05	0.018104
GO:0007059~chromosome segregation	12	1.05E-05	0.018234
GO:0070661~leukocyte proliferation	10	1.28E-05	0.022205
GO:0032943~mononuclear cell proliferation	10	1.28E-05	0.022205
GO:0050900~leukocyte migration	10	1.28E-05	0.022205
GO:0008283~cell proliferation	24	1.55E-05	0.02703
GO:0050764~regulation of phagocytosis	8	1.56E-05	0.027188
GO:0042742~defense response to bacterium	15	2.01E-05	0.035006
GO:0001817~regulation of cytokine production	17	2.39E-05	0.04166
GO:0006897~endocytosis	20	2.75E-05	0.047775
GO:0010324~membrane invagination	20	2.75E-05	0.047775
GO:0043933~macromolecular complex subunit organization	30	2.99E-05	0.05197
GO:0009617~response to bacterium	18	2.99E-05	0.052034
GO:0002504~antigen processing and presentation of peptide or polysaccharide antigen via MHC class II	7	3.03E-05	0.0527
GO:0005819~spindle	15	3.11E-05	0.040903
GO:0002253~activation of immune response	13	3.73E-05	0.064949
GO:0004197~cysteine-type endopeptidase activity	11	4.02E-05	0.059737
GO:0031497~chromatin assembly	12	4.90E-05	0.08532
GO:0065004~protein-DNA complex assembly	12	5.56E-05	0.096707
GO:0030100~regulation of endocytosis	10	6.32E-05	0.109921
GO:0008201~heparin binding	12	9.26E-05	0.137629
GO:0006911~phagocytosis, engulfment	6	1.08E-04	0.187911
GO:0045576~mast cell activation	6	1.08E-04	0.187911
GO:0048534~hemopoietic or lymphoid organ development	24	1.16E-04	0.202227
GO:0065003~macromolecular complex assembly	27	1.18E-04	0.205511
GO:0030097~hemopoiesis	22	1.69E-04	0.293293
GO:0051050~positive regulation of transport	15	1.85E-04	0.322341
GO:0034622~cellular macromolecular complex assembly	20	1.91E-04	0.331177
GO:0006334~nucleosome assembly	11	1.93E-04	0.334921
GO:0016044~membrane organization	23	1.93E-04	0.335304
GO:0030593~neutrophil chemotaxis	6	2.10E-04	0.365353
GO:0002520~immune system development	24	2.38E-04	0.413506
GO:0034728~nucleosome organization	11	2.70E-04	0.468928
GO:0032993~protein-DNA complex	11	3.07E-04	0.404202
GO:0000786~nucleosome	10	3.21E-04	0.42146
GO:0042098~T cell proliferation	7	3.23E-04	0.560544
GO:0034621~cellular macromolecular complex subunit organization	21	3.32E-04	0.577057
GO:0019865~immunoglobulin binding	5	3.34E-04	0.495046
GO:0019864~IgG binding	4	3.50E-04	0.519215
GO:0002764~immune response-regulating signal transduction	9	3.75E-04	0.651358
GO:0007017~microtubule-based process	19	3.83E-04	0.665058
GO:0032553~ribonucleotide binding	86	4.36E-04	0.64601
GO:0032555~purine ribonucleotide binding	86	4.36E-04	0.64601
GO:0002263~cell activation during immune response	7	5.78E-04	1.001411
GO:0002366~leukocyte activation during immune response	7	5.78E-04	1.001411

GO:0002819~regulation of adaptive immune response	9	6.28E-04	1.087728
GO:0002822~regulation of adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	9	6.28E-04	1.087728
GO:0017076~purine nucleotide binding	88	6.39E-04	0.946499
GO:0032675~regulation of interleukin-6 production	7	6.91E-04	1.195934
GO:0043235~receptor complex	11	7.01E-04	0.918893
GO:0003774~motor activity	14	7.06E-04	1.045069
GO:0019377~glycolipid catabolic process	4	7.56E-04	1.307507
GO:0046466~membrane lipid catabolic process	5	7.82E-04	1.351511
GO:0030149~sphingolipid catabolic process	5	7.82E-04	1.351511
GO:0019882~antigen processing and presentation	11	8.08E-04	1.396639
GO:0019956~chemokine binding	6	8.24E-04	1.21781
GO:0005874~microtubule	20	9.59E-04	1.25601
GO:0005996~monosaccharide metabolic process	17	9.65E-04	1.666408
GO:0002824~positive regulation of adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	7	9.68E-04	1.670558
GO:0002821~positive regulation of adaptive immune response	7	9.68E-04	1.670558
GO:0050865~regulation of cell activation	15	0.0010166	1.754599
GO:0007159~leukocyte adhesion	5	0.0010645	1.836573
GO:0032559~adenyl ribonucleotide binding	71	0.0010673	1.575096
GO:0002683~negative regulation of immune system process	10	0.0011783	2.030931
GO:0002757~immune response-activating signal transduction	8	0.0012058	2.07782
GO:0005524~ATP binding	70	0.0012434	1.832762
GO:0001819~positive regulation of cytokine production	9	0.0012487	2.151014
GO:0006333~chromatin assembly or disassembly	12	0.001344	2.313465
GO:0044421~extracellular region part	45	0.0013557	1.770944
GO:0042113~B cell activation	10	0.0014196	2.441992
GO:0015630~microtubule cytoskeleton	30	0.0014897	1.944338
GO:0030554~adenyl nucleotide binding	73	0.0016086	2.365155
GO:0042060~wound healing	12	0.0016762	2.877506
GO:0050670~regulation of lymphocyte proliferation	10	0.0016991	2.916164
GO:0032944~regulation of mononuclear cell proliferation	10	0.0016991	2.916164
GO:0002526~acute inflammatory response	10	0.0018545	3.178854
GO:0070663~regulation of leukocyte proliferation	10	0.0020211	3.459662
GO:0043603~cellular amide metabolic process	7	0.0020294	3.473651
GO:0001883~purine nucleoside binding	73	0.002044	2.996307
GO:0032680~regulation of tumor necrosis factor production	6	0.0020635	3.531033
GO:0019318~hexose metabolic process	15	0.00218	3.726959
GO:0060627~regulation of vesicle-mediated transport	10	0.0021993	3.759378
GO:0042110~T cell activation	12	0.0022207	3.795137
GO:0004896~cytokine receptor activity	8	0.0022223	3.253642
GO:0000785~chromatin	15	0.0022956	2.981606
GO:0051258~protein polymerization	7	0.0023192	3.960321
GO:0002444~myeloid leukocyte mediated immunity	5	0.0023312	3.980535
GO:0001882~nucleoside binding	73	0.0023758	3.474685
GO:0005876~spindle microtubule	5	0.0026042	3.376069
GO:0002694~regulation of leukocyte activation	14	0.002625	4.471423
GO:0003777~microtubule motor activity	9	0.0028887	4.209928
GO:0001805~positive regulation of type III hypersensitivity	3	0.0034849	5.894722
GO:0001803~regulation of type III hypersensitivity	3	0.0034849	5.894722
GO:0002521~leukocyte differentiation	13	0.0037433	6.318438
GO:0002768~immune response-regulating cell surface receptor signaling pathway	7	0.0037983	6.408382
GO:0004175~endopeptidase activity	26	0.0038733	5.606699
GO:0042116~macrophage activation	4	0.00409	6.884261
GO:0051249~regulation of lymphocyte activation	13	0.0041916	7.049344
GO:0030888~regulation of B cell proliferation	6	0.0044682	7.497751
GO:0008034~lipoprotein binding	5	0.0046461	6.68964
GO:0045088~regulation of innate immune response	7	0.0047568	7.963303
GO:0051015~actin filament binding	7	0.0055143	7.892375

GO:0004950~chemokine receptor activity	5	0.0055314	7.915875
GO:0006261~DNA-dependent DNA replication	6	0.0058355	9.684041
GO:0006690~icosanoid metabolic process	6	0.0058355	9.684041
GO:0030098~lymphocyte differentiation	11	0.0060375	10.00284
GO:0019763~immunoglobulin receptor activity	3	0.0063633	9.054578
GO:0002237~response to molecule of bacterial origin	7	0.0065124	10.74836
GO:0050672~negative regulation of lymphocyte proliferation	6	0.006619	10.9149
GO:0070664~negative regulation of leukocyte proliferation	6	0.006619	10.9149
GO:0032945~negative regulation of mononuclear cell proliferation	6	0.006619	10.9149
GO:0016042~lipid catabolic process	12	0.0066947	11.03292
GO:0044430~cytoskeletal part	42	0.0067486	8.532331
GO:0022610~biological adhesion	32	0.0068023	11.20053
GO:0007155~cell adhesion	32	0.0068046	11.20405
GO:0050857~positive regulation of antigen receptor-mediated signaling pathway	3	0.0068106	11.21336
GO:0002706~regulation of lymphocyte mediated immunity	8	0.0069075	11.36397
GO:0048585~negative regulation of response to stimulus	8	0.006907	11.36397
GO:0002275~myeloid cell activation during immune response	4	0.0071224	11.69726
GO:0005125~cytokine activity	14	0.0073234	10.35237
GO:0033559~unsaturated fatty acid metabolic process	6	0.0074734	12.23897
GO:0006869~lipid transport	11	0.0081121	13.2167
GO:0000166~nucleotide binding	93	0.008457	11.86248
GO:0009820~alkaloid metabolic process	5	0.0086014	13.95862
GO:0006769~nicotinamide metabolic process	5	0.0086014	13.95862
GO:0046496~nicotinamide nucleotide metabolic process	5	0.0086014	13.95862
GO:0006910~phagocytosis, recognition	4	0.0090247	14.59577
GO:0002864~regulation of acute inflammatory response to antigenic stimulus	4	0.0090247	14.59577
GO:0002883~regulation of hypersensitivity	4	0.0090247	14.59577
GO:0005044~scavenger receptor activity	6	0.0091096	12.72103
GO:0032101~regulation of response to external stimulus	10	0.0091973	14.85437
GO:0006873~cellular ion homeostasis	18	0.0092605	14.94873
GO:0002703~regulation of leukocyte mediated immunity	8	0.0102743	16.45085
GO:0007596~blood coagulation	8	0.0102743	16.45085
GO:0050817~coagulation	8	0.0102743	16.45085
GO:0050664~oxidoreductase activity, acting on NADH or NADPH, with oxygen as acceptor	3	0.0103721	14.35985
GO:0016175~superoxide-generating NADPH oxidase activity	3	0.0103721	14.35985
GO:0004563~beta-N-acetylhexosaminidase activity	3	0.0103721	14.35985
GO:0051240~positive regulation of multicellular organismal process	13	0.0109536	17.4432
GO:0007599~hemostasis	8	0.0110698	17.61191
GO:0046479~glycosphingolipid catabolic process	3	0.0110924	17.64454
GO:0042590~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I	3	0.0110924	17.64454
GO:0002714~positive regulation of B cell mediated immunity	4	0.0111956	17.79406
GO:0002891~positive regulation of immunoglobulin mediated immune response	4	0.0111956	17.79406
GO:0002707~negative regulation of lymphocyte mediated immunity	4	0.0111956	17.79406
GO:0002704~negative regulation of leukocyte mediated immunity	4	0.0111956	17.79406
GO:0006739~NADP metabolic process	4	0.0111956	17.79406
GO:0006259~DNA metabolic process	25	0.0112844	17.92242
GO:0050864~regulation of B cell activation	7	0.0113609	18.03288
GO:0050777~negative regulation of immune response	5	0.0114634	18.18069
GO:0055082~cellular chemical homeostasis	18	0.0118053	18.67183
GO:0016538~cyclin-dependent protein kinase regulator activity	4	0.0124201	16.95742

Large^{myd-/-} C57BL vs 21 dias

Termo GO	# genes	p-valor	FDR
GO:0006955~immune response	20	9.98E-12	1.51E-08
GO:0006935~chemotaxis	11	5.08E-10	7.68E-07
GO:0042330~taxis	11	5.08E-10	7.68E-07
GO:0006952~defense response	17	3.22E-09	4.86E-06
GO:0006954~inflammatory response	13	4.51E-09	6.82E-06
GO:0008009~chemokine activity	7	4.53E-08	5.57E-05
GO:0042379~chemokine receptor binding	7	5.33E-08	6.56E-05
GO:0009611~response to wounding	14	6.61E-08	9.98E-05
GO:0007610~behavior	14	3.93E-07	5.94E-04
GO:0007626~locomotory behavior	11	9.18E-07	0.001386
GO:0050865~regulation of cell activation	8	2.82E-05	0.042572
GO:0009986~cell surface	11	2.91E-05	0.032251
GO:0005125~cytokine activity	8	4.77E-05	0.058742
GO:0009897~external side of plasma membrane	9	5.94E-05	0.065793
GO:0002694~regulation of leukocyte activation	7	2.35E-04	0.354313
GO:0030246~carbohydrate binding	9	2.77E-04	0.340301
GO:0016064~immunoglobulin mediated immune response	5	4.41E-04	0.663833
GO:0044421~extracellular region part	15	4.63E-04	0.511459
GO:0001775~cell activation	8	4.79E-04	0.721291
GO:0019724~B cell mediated immunity	5	4.97E-04	0.747801
GO:0030247~polysaccharide binding	6	6.01E-04	0.737165
GO:0001871~pattern binding	6	6.01E-04	0.737165
GO:0050798~activated T cell proliferation	3	6.53E-04	0.982848
GO:0002252~immune effector process	6	7.34E-04	1.103007
GO:0002449~lymphocyte mediated immunity	5	8.98E-04	1.348188
GO:0002684~positive regulation of immune system process	7	0.001094	1.640629
GO:0002250~adaptive immune response	5	0.001305	1.953919
GO:0002460~adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	5	0.001305	1.953919
GO:0051249~regulation of lymphocyte activation	6	0.001336	1.999067
GO:0002443~leukocyte mediated immunity	5	0.001617	2.415076
GO:0046651~lymphocyte proliferation	4	0.001714	2.557927
GO:0032943~mononuclear cell proliferation	4	0.001835	2.736303
GO:0070661~leukocyte proliferation	4	0.001835	2.736303
GO:0050867~positive regulation of cell activation	5	0.002569	3.811751
GO:0006911~phagocytosis, engulfment	3	0.003173	4.688104
GO:0019886~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class II	3	0.003613	5.32177
GO:0002495~antigen processing and presentation of peptide antigen via MHC class II	3	0.003613	5.32177
GO:0030593~neutrophil chemotaxis	3	0.00408	5.989645
GO:0007155~cell adhesion	10	0.004329	6.344899
GO:0022610~biological adhesion	10	0.00438	6.416706
GO:0002504~antigen processing and presentation of peptide or polysaccharide antigen via MHC class II	3	0.005092	7.423324
GO:0005615~extracellular space	10	0.006136	6.591009
GO:0004175~endopeptidase activity	8	0.007085	8.386001
GO:0050778~positive regulation of immune response	5	0.007394	10.60733
GO:0002478~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen	3	0.007424	10.64871
GO:0050766~positive regulation of phagocytosis	3	0.007424	10.64871
GO:0045321~leukocyte activation	6	0.008024	11.46022
GO:0050764~regulation of phagocytosis	3	0.008739	12.42081
GO:0007229~integrin-mediated signaling pathway	4	0.009145	12.96123
GO:0002683~negative regulation of immune system process	4	0.009145	12.96123
GO:0008201~heparin binding	4	0.009899	11.53294
GO:0060326~cell chemotaxis	3	0.010151	14.28599
GO:0030595~leukocyte chemotaxis	3	0.010151	14.28599
GO:0050670~regulation of lymphocyte proliferation	4	0.010518	14.76477
GO:0032944~regulation of mononuclear cell proliferation	4	0.010518	14.76477

GO:0019884~antigen processing and presentation of exogenous antigen	3	0.010892	15.25039
GO:0042098~T cell proliferation	3	0.010892	15.25039
GO:0070663~regulation of leukocyte proliferation	4	0.011246	15.70799
GO:0002253~activation of immune response	4	0.012789	17.67335
GO:0008305~integrin complex	3	0.01438	14.82462
GO:0070011~peptidase activity, acting on L-amino acid peptides	9	0.014764	16.74114
GO:0043235~receptor complex	4	0.017149	17.43883

<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-} vs C57Bl/21 dias</i>			
Termo GO	# genes	p-valor	FDR
GO:0042330~taxis	11	1.66E-10	2.47E-07
GO:0006935~chemotaxis	11	1.66E-10	2.47E-07
GO:0006952~defense response	15	4.31E-08	6.40E-05
GO:0006955~immune response	15	8.03E-08	1.19E-04
GO:0007626~locomotory behavior	11	3.22E-07	4.77E-04
GO:0007610~behavior	13	7.93E-07	0.001176
GO:0008009~chemokine activity	6	8.37E-07	0.001028
GO:0042379~chemokine receptor binding	6	9.56E-07	0.001175
GO:0009611~response to wounding	12	1.25E-06	0.001851
GO:0006954~inflammatory response	10	1.91E-06	0.002832
GO:0004857~enzyme inhibitor activity	8	1.31E-04	0.160809
GO:0050865~regulation of cell activation	7	1.37E-04	0.2036
GO:0030414~peptidase inhibitor activity	7	1.65E-04	0.202305
GO:0005125~cytokine activity	7	1.86E-04	0.228603
GO:0019724~B cell mediated immunity	5	3.26E-04	0.48348
GO:0030595~leukocyte chemotaxis	4	3.36E-04	0.497399
GO:0060326~cell chemotaxis	4	3.36E-04	0.497399
GO:0046688~response to copper ion	3	5.25E-04	0.776369
GO:0044421~extracellular region part	14	5.51E-04	0.614444
GO:0002449~lymphocyte mediated immunity	5	5.93E-04	0.876971
GO:0002250~adaptive immune response	5	8.66E-04	1.276954
GO:0002460~adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	5	8.66E-04	1.276954
GO:0002443~leukocyte mediated immunity	5	0.001075	1.583165
GO:0002694~regulation of leukocyte activation	6	0.001099	1.618212
GO:0050900~leukocyte migration	4	0.001337	1.966572
GO:0019886~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class II	3	0.002913	4.236856
GO:0002495~antigen processing and presentation of peptide antigen via MHC class II	3	0.002913	4.236856
GO:0030247~polysaccharide binding	5	0.002977	3.595785
GO:0001871~pattern binding	5	0.002977	3.595785
GO:0005615~extracellular space	10	0.003082	3.392328
GO:0030593~neutrophil chemotaxis	3	0.00329	4.773636
GO:0004175~endopeptidase activity	8	0.003338	4.023929
GO:0030246~carbohydrate binding	7	0.003519	4.237705
GO:0002252~immune effector process	5	0.003829	5.534216
GO:0016064~immunoglobulin mediated immune response	4	0.004003	5.779463
GO:0002504~antigen processing and presentation of peptide or polysaccharide antigen via MHC class II	3	0.00411	5.929435
GO:0032403~protein complex binding	4	0.005739	6.825481
GO:0002478~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen	3	0.006002	8.547056
GO:0050766~positive regulation of phagocytosis	3	0.006002	8.547056
GO:0051249~regulation of lymphocyte activation	5	0.006139	8.734118
GO:0070011~peptidase activity, acting on L-amino acid peptides	9	0.006681	7.904373
GO:0004866~endopeptidase inhibitor activity	5	0.006714	7.94168
GO:0050764~regulation of phagocytosis	3	0.00707	9.995444
GO:0050670~regulation of lymphocyte proliferation	4	0.00779	10.95899
GO:0032944~regulation of mononuclear cell proliferation	4	0.00779	10.95899
GO:0001775~cell activation	6	0.008191	11.49153
GO:0070663~regulation of leukocyte proliferation	4	0.008337	11.68434
GO:0008233~peptidase activity	9	0.008536	9.994275
GO:0019884~antigen processing and presentation of exogenous antigen	3	0.008822	12.32323
GO:0008237~metallopeptidase activity	5	0.011232	12.95527
GO:0045807~positive regulation of endocytosis	3	0.012839	17.45207
GO:0002274~myeloid leukocyte activation	3	0.013573	18.35822
GO:0048002~antigen processing and presentation of peptide antigen	3	0.013573	18.35822
GO:0050672~negative regulation of lymphocyte proliferation	3	0.013573	18.35822

GO:0070664~negative regulation of leukocyte proliferation	3	0.013573	18.35822
GO:0032945~negative regulation of mononuclear cell proliferation	3	0.013573	18.35822
GO:0050867~positive regulation of cell activation	4	0.014654	19.67655
GO:0004222~metalloendopeptidase activity	4	0.016118	18.09359
GO:0030016~myofibril	4	0.016668	17.1331
GO:0043292~contractile fiber	4	0.018676	19.00565

<i>Dmd^{mdx}</i> vs <i>C57BL</i> 3 meses				
Termo GO	# genes	p-valor	FDR	
GO:0006955~immune response	40	1.89E-25	3.04E-22	
GO:0006952~defense response	33	6.61E-19	1.06E-15	
GO:0006954~inflammatory response	24	4.01E-17	6.46E-14	
GO:0009611~response to wounding	26	6.52E-15	1.05E-11	
GO:0006935~chemotaxis	16	2.11E-13	3.40E-10	
GO:0042330~taxis	16	2.11E-13	3.40E-10	
GO:0001775~cell activation	21	4.53E-13	7.30E-10	
GO:0002478~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen	10	5.60E-13	9.01E-10	
GO:0048002~antigen processing and presentation of peptide antigen	11	1.07E-12	1.72E-09	
GO:0002252~immune effector process	16	1.85E-12	2.99E-09	
GO:0019884~antigen processing and presentation of exogenous antigen	10	4.54E-12	7.30E-09	
GO:0045321~leukocyte activation	19	6.10E-12	9.82E-09	
GO:0007626~locomotory behavior	19	2.65E-11	4.26E-08	
GO:0009986~cell surface	22	3.10E-11	3.72E-08	
GO:0019886~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class II	8	9.14E-11	1.47E-07	
GO:0002495~antigen processing and presentation of peptide antigen via MHC class II	8	9.14E-11	1.47E-07	
GO:0009897~external side of plasma membrane	18	1.65E-10	1.98E-07	
GO:0002504~antigen processing and presentation of peptide or polysaccharide antigen via MHC class II	8	3.93E-10	6.32E-07	
GO:0050778~positive regulation of immune response	14	9.62E-10	1.55E-06	
GO:0002443~leukocyte mediated immunity	12	1.26E-09	2.03E-06	
GO:0050766~positive regulation of phagocytosis	8	1.85E-09	2.97E-06	
GO:0002684~positive regulation of immune system process	16	2.13E-09	3.42E-06	
GO:0007610~behavior	21	3.56E-09	5.73E-06	
GO:0050764~regulation of phagocytosis	8	3.56E-09	5.74E-06	
GO:0019882~antigen processing and presentation	11	1.50E-08	2.42E-05	
GO:0045807~positive regulation of endocytosis	8	3.70E-08	5.96E-05	
GO:0048584~positive regulation of response to stimulus	14	4.34E-08	6.98E-05	
GO:0002449~lymphocyte mediated immunity	10	6.24E-08	1.00E-04	
GO:0008009~chemokine activity	8	6.78E-08	8.97E-05	
GO:0042379~chemokine receptor binding	8	8.20E-08	1.08E-04	
GO:0002250~adaptive immune response	10	1.51E-07	2.43E-04	
GO:0002460~adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	10	1.51E-07	2.43E-04	
GO:0016064~immunoglobulin mediated immune response	9	2.00E-07	3.21E-04	
GO:0042110~T cell activation	11	2.40E-07	3.86E-04	
GO:0019724~B cell mediated immunity	9	2.56E-07	4.12E-04	
GO:0006911~phagocytosis, engulfment	6	2.59E-07	4.16E-04	
GO:0030246~carbohydrate binding	16	4.27E-07	5.65E-04	
GO:0046649~lymphocyte activation	13	4.67E-07	7.52E-04	
GO:0030100~regulation of endocytosis	8	7.92E-07	0.001275	
GO:0005764~lysosome	13	8.34E-07	9.99E-04	
GO:0000323~lytic vacuole	13	8.85E-07	0.001061	
GO:0002253~activation of immune response	9	2.25E-06	0.003629	
GO:0019865~immunoglobulin binding	5	2.65E-06	0.003513	
GO:0005773~vacuole	13	3.50E-06	0.004192	
GO:0046651~lymphocyte proliferation	7	3.51E-06	0.005652	
GO:0032943~mononuclear cell proliferation	7	4.05E-06	0.006515	
GO:0070661~leukocyte proliferation	7	4.05E-06	0.006515	
GO:0042098~T cell proliferation	6	7.62E-06	0.012265	
GO:0019864~IgG binding	4	8.81E-06	0.011665	
GO:0006909~phagocytosis	7	8.84E-06	0.014226	
GO:0045576~mast cell activation	5	1.20E-05	0.019364	
GO:0060627~regulation of vesicle-mediated transport	8	1.90E-05	0.030579	
GO:0002822~regulation of adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	7	1.94E-05	0.031187	
GO:0002819~regulation of adaptive immune response	7	1.94E-05	0.031187	

GO:0030593~neutrophil chemotaxis	5	2.07E-05	0.03324
GO:0019955~cytokine binding	8	2.28E-05	0.030195
GO:0051130~positive regulation of cellular component organization	9	3.03E-05	0.048709
GO:0001871~pattern binding	9	3.42E-05	0.045288
GO:0030247~polysaccharide binding	9	3.42E-05	0.045288
GO:0005125~cytokine activity	10	6.39E-05	0.084548
GO:0042742~defense response to bacterium	8	1.04E-04	0.166819
GO:0002757~immune response-activating signal transduction	6	1.13E-04	0.181867
GO:0030595~leukocyte chemotaxis	5	1.41E-04	0.226584
GO:0060326~cell chemotaxis	5	1.41E-04	0.226584
GO:0008201~heparin binding	7	1.53E-04	0.201779
GO:0002764~immune response-regulating signal transduction	6	1.66E-04	0.267234
GO:0009617~response to bacterium	9	1.79E-04	0.288059
GO:0002712~regulation of B cell mediated immunity	5	2.15E-04	0.345492
GO:0002889~regulation of immunoglobulin mediated immune response	5	2.15E-04	0.345492
GO:0031349~positive regulation of defense response	6	2.57E-04	0.41337
GO:0002864~regulation of acute inflammatory response to antigenic stimulus	4	2.61E-04	0.41871
GO:0002883~regulation of hypersensitivity	4	2.61E-04	0.41871
GO:0006910~phagocytosis, recognition	4	2.61E-04	0.41871
GO:0001803~regulation of type III hypersensitivity	3	2.96E-04	0.47601
GO:0001805~positive regulation of type III hypersensitivity	3	2.96E-04	0.47601
GO:0002714~positive regulation of B cell mediated immunity	4	3.29E-04	0.528734
GO:0002891~positive regulation of immunoglobulin mediated immune response	4	3.29E-04	0.528734
GO:0002821~positive regulation of adaptive immune response	5	3.53E-04	0.566233
GO:0002824~positive regulation of adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	5	3.53E-04	0.566233
GO:0051050~positive regulation of transport	8	3.59E-04	0.577039
GO:0016044~membrane organization	11	4.06E-04	0.652291
GO:0044421~extracellular region part	21	4.61E-04	0.550907
GO:0005576~extracellular region	35	4.68E-04	0.558886
GO:0002706~regulation of lymphocyte mediated immunity	6	4.76E-04	0.763711
GO:0048534~hemopoietic or lymphoid organ development	11	5.25E-04	0.841086
GO:0019763~immunoglobulin receptor activity	3	5.54E-04	0.730849
GO:0010324~membrane invagination	9	6.03E-04	0.966199
GO:0006897~endocytosis	9	6.03E-04	0.966199
GO:0002703~regulation of leukocyte mediated immunity	6	6.70E-04	1.073714
GO:0002673~regulation of acute inflammatory response	4	7.17E-04	1.14769
GO:0002861~regulation of inflammatory response to antigenic stimulus	4	7.17E-04	1.14769
GO:0002429~immune response-activating cell surface receptor signaling pathway	5	7.30E-04	1.167993
GO:0002520~immune system development	11	7.64E-04	1.22283
GO:0005539~glycosaminoglycan binding	7	8.44E-04	1.111846
GO:0008283~cell proliferation	10	8.45E-04	1.352194
GO:0050900~leukocyte migration	5	8.75E-04	1.399988
GO:0042277~peptide binding	8	9.42E-04	1.239772
GO:0030097~hemopoiesis	10	9.47E-04	1.513477
GO:0002768~immune response-regulating cell surface receptor signaling pathway	5	9.56E-04	1.527222
GO:0032403~protein complex binding	6	9.56E-04	1.257745
GO:0050865~regulation of cell activation	8	9.74E-04	1.556071
GO:0042590~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I	3	9.75E-04	1.557935
GO:0008037~cell recognition	5	0.001227	1.956725
GO:0002526~acute inflammatory response	6	0.0013	2.072479
GO:0007155~cell adhesion	15	0.001474	2.346133
GO:0022610~biological adhesion	15	0.001499	2.385266
GO:0050830~defense response to Gram-positive bacterium	4	0.0015	2.387309
GO:0002697~regulation of immune effector process	6	0.00188	2.984256
GO:0005615~extracellular space	15	0.00201	2.382234
GO:0050798~activated T cell proliferation	3	0.002021	3.20358

GO:0032680~regulation of tumor necrosis factor production	4	0.002406	3.803438
GO:0016192~vesicle-mediated transport	13	0.002491	3.934472
GO:0001796~regulation of type IIa hypersensitivity	3	0.002677	4.222595
GO:0001798~positive regulation of type IIa hypersensitivity	3	0.002677	4.222595
GO:0001810~regulation of type I hypersensitivity	3	0.002677	4.222595
GO:0002888~positive regulation of myeloid leukocyte mediated immunity	3	0.002677	4.222595
GO:0002892~regulation of type II hypersensitivity	3	0.002677	4.222595
GO:0002894~positive regulation of type II hypersensitivity	3	0.002677	4.222595
GO:0045059~positive thymic T cell selection	3	0.002677	4.222595
GO:0001817~regulation of cytokine production	7	0.002726	4.298559
GO:0045060~negative thymic T cell selection	3	0.003419	5.363555
GO:0050867~positive regulation of cell activation	6	0.003429	5.379593
GO:0042981~regulation of apoptosis	14	0.003639	5.699778
GO:0045582~positive regulation of T cell differentiation	4	0.003934	6.148025
GO:0043067~regulation of programmed cell death	14	0.004046	6.317672
GO:0010941~regulation of cell death	14	0.004231	6.597849
GO:0002866~positive regulation of acute inflammatory response to antigenic stimulus	3	0.004246	6.619455
GO:0002885~positive regulation of hypersensitivity	3	0.004246	6.619455
GO:0043383~negative T cell selection	3	0.004246	6.619455
GO:0043368~positive T cell selection	3	0.004246	6.619455
GO:0002694~regulation of leukocyte activation	7	0.004514	7.023585
GO:0045621~positive regulation of lymphocyte differentiation	4	0.004678	7.269604
GO:0006873~cellular ion homeostasis	9	0.004736	7.357553
GO:0002675~positive regulation of acute inflammatory response	3	0.005155	7.983063
GO:0042613~MHC class II protein complex	3	0.005429	6.314611
GO:0055082~cellular chemical homeostasis	9	0.00554	8.554003
GO:0030098~lymphocyte differentiation	6	0.005735	8.842125
GO:0051094~positive regulation of developmental process	8	0.00574	8.849648
GO:0030217~T cell differentiation	5	0.007064	10.78349
GO:0002683~negative regulation of immune system process	5	0.007064	10.78349
GO:0002863~positive regulation of inflammatory response to antigenic stimulus	3	0.007216	11.00364
GO:0002820~negative regulation of adaptive immune response	3	0.007216	11.00364
GO:0002823~negative regulation of adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	3	0.007216	11.00364
GO:0002705~positive regulation of leukocyte mediated immunity	4	0.007394	11.26051
GO:0002708~positive regulation of lymphocyte mediated immunity	4	0.007394	11.26051
GO:0045597~positive regulation of cell differentiation	7	0.008305	12.56192
GO:0007159~leukocyte adhesion	3	0.008364	12.64547
GO:0002704~negative regulation of leukocyte mediated immunity	3	0.008364	12.64547
GO:0002707~negative regulation of lymphocyte mediated immunity	3	0.008364	12.64547
GO:0042108~positive regulation of cytokine biosynthetic process	4	0.008468	12.7933
GO:0050801~ion homeostasis	9	0.009282	13.93794
GO:0002886~regulation of myeloid leukocyte mediated immunity	3	0.009588	14.36482
GO:0045061~thymic T cell selection	3	0.009588	14.36482
GO:0002699~positive regulation of immune effector process	4	0.010878	16.14319
GO:0045088~regulation of innate immune response	4	0.010878	16.14319
GO:0030005~cellular di-, tri-valent inorganic cation homeostasis	6	0.011147	16.5101
GO:0019957~C-C chemokine binding	3	0.011562	14.26709
GO:0016493~C-C chemokine receptor activity	3	0.011562	14.26709
GO:0045580~regulation of T cell differentiation	4	0.012217	17.95133
GO:0002474~antigen processing and presentation of peptide antigen via MHC class I	3	0.012257	18.00566
GO:0043235~receptor complex	5	0.014671	16.2298

Large^{myd-/-} vs C57BL 3 meses

Termo GO	# genes	p-valor	FDR
GO:0006952~defense response	29	1.74E-15	2.79E-12
GO:0006954~inflammatory response	22	3.24E-15	5.04E-12
GO:0006955~immune response	26	2.64E-12	4.14E-09
GO:0009611~response to wounding	22	1.58E-11	2.47E-08
GO:0044421~extracellular region part	29	1.86E-09	2.21E-06
GO:0001871~pattern binding	12	1.57E-08	2.09E-05
GO:0030247~polysaccharide binding	12	1.57E-08	2.09E-05
GO:0005764~lysosome	14	2.43E-08	2.90E-05
GO:0000323~lytic vacuole	14	2.60E-08	3.10E-05
GO:0008009~chemokine activity	8	3.45E-08	4.59E-05
GO:0002252~immune effector process	12	3.48E-08	5.44E-05
GO:0042379~chemokine receptor binding	8	4.17E-08	5.56E-05
GO:0042330~taxis	11	9.33E-08	1.46E-04
GO:0006935~chemotaxis	11	9.33E-08	1.46E-04
GO:0005773~vacuole	14	1.22E-07	1.45E-04
GO:0008201~heparin binding	9	6.46E-07	8.61E-04
GO:0005539~glycosaminoglycan binding	10	6.98E-07	9.29E-04
GO:0002684~positive regulation of immune system process	13	6.99E-07	0.001095
GO:0045087~innate immune response	10	8.82E-07	0.001381
GO:0031012~extracellular matrix	15	2.45E-06	0.002923
GO:0030246~carbohydrate binding	14	4.23E-06	0.005639
GO:0050778~positive regulation of immune response	10	6.51E-06	0.010194
GO:0009897~external side of plasma membrane	12	6.69E-06	0.007964
GO:0005578~proteinaceous extracellular matrix	14	8.34E-06	0.009936
GO:0002443~leukocyte mediated immunity	8	2.36E-05	0.036874
GO:0009986~cell surface	13	5.37E-05	0.064012
GO:0048584~positive regulation of response to stimulus	10	7.83E-05	0.122552
GO:0002449~lymphocyte mediated immunity	7	9.01E-05	0.140929
GO:0007626~locomotory behavior	11	1.05E-04	0.164891
GO:0002250~adaptive immune response	7	1.57E-04	0.245953
GO:0002460~adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	7	1.57E-04	0.245953
GO:0002253~activation of immune response	7	1.79E-04	0.280005
GO:0005125~cytokine activity	9	1.88E-04	0.250741
GO:0016064~immunoglobulin mediated immune response	6	3.47E-04	0.541173
GO:0019724~B cell mediated immunity	6	4.01E-04	0.626009
GO:0005615~extracellular space	15	5.77E-04	0.685656
GO:0008034~lipoprotein binding	4	7.88E-04	1.044859
GO:0005509~calcium ion binding	18	0.001064	1.407775
GO:0007610~behavior	12	0.001858	2.870625
GO:0070011~peptidase activity, acting on L-amino acid peptides	14	0.002472	3.243842
GO:0006958~complement activation, classical pathway	4	0.002939	4.504668
GO:0008233~peptidase activity	14	0.003552	4.630036
GO:0006873~cellular ion homeostasis	9	0.003777	5.75327
GO:0042742~defense response to bacterium	6	0.003895	5.927219
GO:0050829~defense response to Gram-negative bacterium	3	0.003946	6.002889
GO:0004175~endopeptidase activity	11	0.004001	5.200792
GO:0009617~response to bacterium	7	0.004131	6.275413
GO:0042592~homeostatic process	14	0.004175	6.341493
GO:0055082~cellular chemical homeostasis	9	0.004427	6.712002
GO:0002455~humoral immune response mediated by circulating immunoglobulin	4	0.004575	6.928933
GO:0048002~antigen processing and presentation of peptide antigen	4	0.004575	6.928933
GO:0030414~peptidase inhibitor activity	7	0.004616	5.978063
GO:0002541~activation of plasma proteins involved in acute inflammatory response	4	0.004957	7.485393
GO:0006956~complement activation	4	0.004957	7.485393
GO:0030169~low-density lipoprotein binding	3	0.005627	7.242112

GO:0004857~enzyme inhibitor activity	8	0.005668	7.292829
GO:0019725~cellular homeostasis	10	0.005978	8.960542
GO:0050801~ion homeostasis	9	0.007476	11.08524
GO:0002526~acute inflammatory response	5	0.007748	11.4663
GO:0006693~prostaglandin metabolic process	3	0.007781	11.51221
GO:0006692~prostanoid metabolic process	3	0.007781	11.51221
GO:0030005~cellular di-, tri-valent inorganic cation homeostasis	6	0.009575	13.9846
GO:0008283~cell proliferation	8	0.009999	14.56016
GO:0019886~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class II	3	0.010132	14.73913
GO:0002495~antigen processing and presentation of peptide antigen via MHC class II	3	0.010132	14.73913
GO:0051249~regulation of lymphocyte activation	6	0.01279	18.25421
GO:0055066~di-, tri-valent inorganic cation homeostasis	6	0.013511	19.18386
GO:0004866~endopeptidase inhibitor activity	6	0.013873	16.98126

<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-}</i> vs <i>C57Bl/3</i> meses			
Termo GO	# genes	p-valor	FDR
GO:0006955~immune response	45	1.66E-21	2.74E-18
GO:0006952~defense response	41	7.15E-19	1.18E-15
GO:0006954~inflammatory response	29	3.83E-17	6.30E-14
GO:0009611~response to wounding	32	1.00E-14	1.64E-11
GO:0002252~immune effector process	19	2.03E-12	3.34E-09
GO:0005764~lysosome	22	5.48E-12	6.79E-09
GO:0000323~lytic vacuole	22	6.11E-12	7.57E-09
GO:002478~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen	10	4.73E-11	7.78E-08
GO:0005773~vacuole	22	7.53E-11	9.34E-08
GO:0048002~antigen processing and presentation of peptide antigen	11	1.42E-10	2.34E-07
GO:0009986~cell surface	26	1.57E-10	1.94E-07
GO:0002443~leukocyte mediated immunity	15	1.66E-10	2.73E-07
GO:0019884~antigen processing and presentation of exogenous antigen	10	3.72E-10	6.12E-07
GO:0009897~external side of plasma membrane	21	6.21E-10	7.71E-07
GO:0030246~carbohydrate binding	23	2.16E-09	2.99E-06
GO:0006935~chemotaxis	15	2.61E-09	4.29E-06
GO:0042330~taxis	15	2.61E-09	4.29E-06
GO:0002495~antigen processing and presentation of peptide antigen via MHC class II	8	2.85E-09	4.70E-06
GO:0019886~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class II	8	2.85E-09	4.70E-06
GO:0002449~lymphocyte mediated immunity	13	3.32E-09	5.46E-06
GO:0019724~B cell mediated immunity	12	7.13E-09	1.17E-05
GO:0044421~extracellular region part	39	7.72E-09	9.58E-06
GO:0002250~adaptive immune response	13	1.08E-08	1.77E-05
GO:0002460~adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	13	1.08E-08	1.77E-05
GO:0002504~antigen processing and presentation of peptide or polysaccharide antigen via MHC class II	8	1.21E-08	1.98E-05
GO:0002684~positive regulation of immune system process	18	4.61E-08	7.59E-05
GO:0050778~positive regulation of immune response	15	4.69E-08	7.72E-05
GO:0030247~polysaccharide binding	14	6.03E-08	8.34E-05
GO:0001871~pattern binding	14	6.03E-08	8.34E-05
GO:0016064~immunoglobulin mediated immune response	11	6.64E-08	1.09E-04
GO:0008009~chemokine activity	9	7.31E-08	1.01E-04
GO:0007626~locomotory behavior	19	7.48E-08	1.23E-04
GO:0042379~chemokine receptor binding	9	9.08E-08	1.26E-04
GO:0031012~extracellular matrix	22	1.30E-07	1.62E-04
GO:0045087~innate immune response	13	1.70E-07	2.80E-04
GO:0005578~proteinaceous extracellular matrix	21	3.06E-07	3.79E-04
GO:0001775~cell activation	18	5.93E-07	9.75E-04
GO:0045321~leukocyte activation	17	6.13E-07	0.001009
GO:0005539~glycosaminoglycan binding	12	1.08E-06	0.001494
GO:0050766~positive regulation of phagocytosis	7	1.42E-06	0.00234
GO:0019882~antigen processing and presentation	11	1.48E-06	0.00243
GO:0048584~positive regulation of response to stimulus	15	2.21E-06	0.003642
GO:0050764~regulation of phagocytosis	7	2.43E-06	0.003995
GO:0006911~phagocytosis, engulfment	6	2.92E-06	0.004812
GO:0007610~behavior	22	3.07E-06	0.005054
GO:0008201~heparin binding	10	3.99E-06	0.005518
GO:0019955~cytokine binding	10	6.51E-06	0.008992
GO:0002253~activation of immune response	10	1.09E-05	0.017929
GO:0019865~immunoglobulin binding	5	1.48E-05	0.020494
GO:0045807~positive regulation of endocytosis	7	1.63E-05	0.026828
GO:0019864~IgG binding	4	3.24E-05	0.044706
GO:0045576~mast cell activation	5	8.22E-05	0.13512
GO:0006909~phagocytosis	7	1.38E-04	0.227226
GO:0030100~regulation of endocytosis	7	1.93E-04	0.31747

GO:0004857~enzyme inhibitor activity	13	3.00E-04	0.413259
GO:0005509~calcium ion binding	27	3.35E-04	0.462117
GO:0002526~acute inflammatory response	8	3.53E-04	0.578677
GO:0005125~cytokine activity	11	3.81E-04	0.525182
mmu04610:Complement and coagulation cascades	8	4.51E-04	0.490364
GO:0001803~regulation of type III hypersensitivity	3	7.89E-04	1.289702
GO:0001805~positive regulation of type III hypersensitivity	3	7.89E-04	1.289702
GO:0030595~leukocyte chemotaxis	5	9.06E-04	1.480175
GO:0060326~cell chemotaxis	5	9.06E-04	1.480175
GO:0002883~regulation of hypersensitivity	4	0.00109	1.778783
GO:0002864~regulation of acute inflammatory response to antigenic stimulus	4	0.00109	1.778783
GO:0006910~phagocytosis, recognition	4	0.00109	1.778783
GO:0019763~immunoglobulin receptor activity	3	0.001313	1.798554
GO:0030414~peptidase inhibitor activity	10	0.001337	1.831229
GO:0006958~complement activation, classical pathway	5	0.001361	2.216706
GO:0006692~prostanoid metabolic process	4	0.001371	2.23191
GO:0006693~prostaglandin metabolic process	4	0.001371	2.23191
GO:0001503~ossification	8	0.001754	2.8468
GO:0005615~extracellular space	20	0.001811	2.224417
GO:0006959~humoral immune response	6	0.001836	2.977772
GO:0001817~regulation of cytokine production	9	0.002018	3.269594
GO:0002822~regulation of adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	6	0.00216	3.494475
GO:0002819~regulation of adaptive immune response	6	0.00216	3.494475
GO:0031349~positive regulation of defense response	6	0.002336	3.775268
GO:0060627~regulation of vesicle-mediated transport	7	0.002356	3.807399
GO:0002455~humoral immune response mediated by circulating immunoglobulin	5	0.002441	3.94102
GO:0030593~neutrophil chemotaxis	4	0.00247	3.987568
GO:0002444~myeloid leukocyte mediated immunity	4	0.00247	3.987568
GO:0004197~cysteine-type endopeptidase activity	6	0.002491	3.387938
GO:0042590~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I	3	0.002572	4.149468
GO:0005044~scavenger receptor activity	5	0.002664	3.618838
GO:0002541~activation of plasma proteins involved in acute inflammatory response	5	0.002711	4.368527
GO:0006956~complement activation	5	0.002711	4.368527
GO:0042110~T cell activation	8	0.002927	4.708211
GO:0002673~regulation of acute inflammatory response	4	0.002929	4.711217
GO:0002861~regulation of inflammatory response to antigenic stimulus	4	0.002929	4.711217
GO:0050801~ion homeostasis	13	0.003204	5.1439
GO:0060348~bone development	8	0.00322	5.168596
GO:0042592~homeostatic process	20	0.003336	5.349029
GO:0016485~protein processing	7	0.003538	5.664905
GO:0008034~lipoprotein binding	4	0.003607	4.86962
GO:0010324~membrane invagination	10	0.003772	6.028104
GO:0006897~endocytosis	10	0.003772	6.028104
GO:0006873~cellular ion homeostasis	12	0.0038	6.072333
GO:0051130~positive regulation of cellular component organization	8	0.003874	6.186881
GO:0051605~protein maturation by peptide bond cleavage	6	0.004149	6.611846
GO:0070011~peptidase activity, acting on L-amino acid peptides	19	0.004171	5.612142
GO:0046649~lymphocyte activation	10	0.004184	6.666291
GO:0004175~endopeptidase activity	15	0.004486	6.023174
GO:0055082~cellular chemical homeostasis	12	0.004635	7.359412
GO:0051604~protein maturation	7	0.004861	7.704132
GO:0050900~leukocyte migration	5	0.005197	8.216305
GO:0051050~positive regulation of transport	8	0.005948	9.349813
GO:0051015~actin filament binding	5	0.006111	8.121077
GO:0032403~protein complex binding	6	0.006251	8.299744
GO:0008233~peptidase activity	19	0.006412	8.504691
GO:0030005~cellular di-, tri-valent inorganic cation homeostasis	8	0.006447	10.09536

GO:0001796~regulation of type IIa hypersensitivity	3	0.006973	10.87556
GO:0001798~positive regulation of type IIa hypersensitivity	3	0.006973	10.87556
GO:0001810~regulation of type I hypersensitivity	3	0.006973	10.87556
GO:0002894~positive regulation of type II hypersensitivity	3	0.006973	10.87556
GO:0002888~positive regulation of myeloid leukocyte mediated immunity	3	0.006973	10.87556
GO:0002892~regulation of type II hypersensitivity	3	0.006973	10.87556
GO:0001501~skeletal system development	12	0.007258	11.29513
GO:0002757~immune response-activating signal transduction	5	0.007692	11.93144
GO:0007584~response to nutrient	6	0.008036	12.4316
GO:0030097~hemopoiesis	11	0.008321	12.84541
GO:0004896~cytokine receptor activity	5	0.009179	11.96246
GO:0032680~regulation of tumor necrosis factor production	4	0.009425	14.42756
GO:0055066~di-, tri-valent inorganic cation homeostasis	8	0.010119	15.40914
GO:0002764~immune response-regulating signal transduction	5	0.010176	15.48885
GO:0048872~homeostasis of number of cells	7	0.010555	16.02019
GO:0004866~endopeptidase inhibitor activity	8	0.010741	13.86093
GO:0055080~cation homeostasis	9	0.010771	16.32143
GO:0019725~cellular homeostasis	13	0.0108	16.36175
GO:0002866~positive regulation of acute inflammatory response to antigenic stimulus	3	0.010968	16.59534
GO:0002885~positive regulation of hypersensitivity	3	0.010968	16.59534
GO:0001516~prostaglandin biosynthetic process	3	0.010968	16.59534
GO:0046457~prostanoid biosynthetic process	3	0.010968	16.59534
GO:0031667~response to nutrient levels	7	0.011446	17.25539
GO:0030003~cellular cation homeostasis	8	0.012441	18.61466
GO:0002712~regulation of B cell mediated immunity	4	0.012622	18.86072
GO:0002889~regulation of immunoglobulin mediated immune response	4	0.012622	18.86072
GO:0042613~MHC class II protein complex	3	0.012745	14.713
GO:0002675~positive regulation of acute inflammatory response	3	0.013263	19.72221
GO:0002694~regulation of leukocyte activation	8	0.013293	19.76333
GO:0030169~low-density lipoprotein binding	3	0.015615	19.54409
GO:0030141~secretory granule	7	0.017582	19.7544

<i>Dmd^{mdx}</i> vs C57BL 6 meses			
Termo GO	# genes	p-valor	FDR
GO:0006955~immune response	52	6.53E-21	1.11E-17
GO:0006954~inflammatory response	35	1.17E-18	1.99E-15
GO:0006952~defense response	46	2.96E-17	5.04E-14
GO:0009611~response to wounding	39	7.44E-16	1.32E-12
GO:0005764~lysosome	27	3.92E-13	5.02E-10
GO:0000323~lytic vacuole	27	4.48E-13	5.74E-10
GO:0002252~immune effector process	21	8.05E-12	1.37E-08
GO:0005773~vacuole	27	9.69E-12	1.24E-08
GO:0002478~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen	11	3.00E-11	5.10E-08
GO:0009986~cell surface	32	3.70E-11	4.74E-08
GO:0002443~leukocyte mediated immunity	17	1.51E-10	2.56E-07
GO:0048002~antigen processing and presentation of peptide antigen	12	1.94E-10	3.29E-07
GO:0002274~myeloid leukocyte activation	12	1.94E-10	3.29E-07
GO:0019884~antigen processing and presentation of exogenous antigen	11	3.11E-10	5.29E-07
GO:0002495~antigen processing and presentation of peptide antigen via MHC class II	9	7.56E-10	1.28E-06
GO:0019886~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class II	9	7.56E-10	1.28E-06
GO:0002449~lymphocyte mediated immunity	15	1.55E-09	2.63E-06
GO:0019724~B cell mediated immunity	14	2.08E-09	3.53E-06
GO:0009897~external side of plasma membrane	24	2.25E-09	2.88E-06
GO:0030246~carbohydrate binding	28	2.50E-09	3.61E-06
GO:0002504~antigen processing and presentation of peptide or polysaccharide antigen via MHC class II	9	4.18E-09	7.10E-06
GO:0044421~extracellular region part	49	5.81E-09	7.44E-06
GO:0002250~adaptive immune response	15	6.07E-09	1.03E-05
GO:0002460~adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	15	6.07E-09	1.03E-05
GO:0002684~positive regulation of immune system process	22	1.06E-08	1.79E-05
GO:0016064~immunoglobulin mediated immune response	13	1.57E-08	2.67E-05
GO:0006935~chemotaxis	16	2.59E-08	4.39E-05
GO:0042330~taxis	16	2.59E-08	4.39E-05
GO:0045321~leukocyte activation	22	3.11E-08	5.29E-05
GO:0045807~positive regulation of endocytosis	10	4.87E-08	8.27E-05
GO:0001775~cell activation	23	5.12E-08	8.71E-05
GO:0050764~regulation of phagocytosis	9	5.31E-08	9.01E-05
GO:0031012~extracellular matrix	27	7.72E-08	9.89E-05
GO:0050778~positive regulation of immune response	17	8.47E-08	1.44E-04
GO:0005578~proteinaceous extracellular matrix	26	1.37E-07	1.76E-04
GO:0007626~locomotory behavior	22	1.40E-07	2.39E-04
GO:0030100~regulation of endocytosis	11	2.31E-07	3.92E-04
GO:0050766~positive regulation of phagocytosis	8	5.50E-07	9.35E-04
GO:0006911~phagocytosis, engulfment	7	5.76E-07	9.79E-04
GO:0051130~positive regulation of cellular component organization	15	7.49E-07	0.001273
GO:0030247~polysaccharide binding	15	1.01E-06	0.001461
GO:0001871~pattern binding	15	1.01E-06	0.001461
GO:0019955~cytokine binding	12	4.01E-06	0.005791
GO:0019882~antigen processing and presentation	12	4.51E-06	0.007657
GO:0048584~positive regulation of response to stimulus	17	5.84E-06	0.00992
GO:0005539~glycosaminoglycan binding	13	9.00E-06	0.013002
GO:0006909~phagocytosis	9	1.37E-05	0.023304
GO:0060627~regulation of vesicle-mediated transport	11	1.89E-05	0.032176
GO:0007610~behavior	25	2.07E-05	0.035142
GO:0005509~calcium ion binding	39	2.54E-05	0.036616
GO:0006897~endocytosis	16	2.80E-05	0.04754
GO:0010324~membrane invagination	16	2.80E-05	0.04754
GO:0002819~regulation of adaptive immune response	9	3.76E-05	0.063868
GO:0002822~regulation of adaptive immune response based on somatic	9	3.76E-05	0.063868

recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains			
GO:0050801~ion homeostasis	20	4.58E-05	0.077795
GO:0048770~pigment granule	11	5.38E-05	0.068963
GO:0042470~melanosome	11	5.38E-05	0.068963
GO:0042110~T cell activation	12	7.02E-05	0.119301
GO:0019865~immunoglobulin binding	5	7.13E-05	0.102938
GO:0055080~cation homeostasis	15	8.65E-05	0.146957
GO:0002526~acute inflammatory response	10	9.43E-05	0.160163
GO:0019864~IgG binding	4	1.07E-04	0.15433
GO:0006873~cellular ion homeostasis	18	1.09E-04	0.184833
GO:0002706~regulation of lymphocyte mediated immunity	9	1.12E-04	0.189768
GO:0033559~unsaturated fatty acid metabolic process	7	1.50E-04	0.253766
GO:0055082~cellular chemical homeostasis	18	1.50E-04	0.254486
GO:0002253~activation of immune response	10	1.50E-04	0.255376
GO:0016044~membrane organization	18	1.79E-04	0.303663
GO:0008009~chemokine activity	7	1.79E-04	0.258444
GO:0002703~regulation of leukocyte mediated immunity	9	1.89E-04	0.321316
GO:0030003~cellular cation homeostasis	13	1.95E-04	0.330767
GO:0042379~chemokine receptor binding	7	2.08E-04	0.299706
GO:0051050~positive regulation of transport	12	2.24E-04	0.379628
GO:0030005~cellular di-, tri-valent inorganic cation homeostasis	12	2.55E-04	0.432912
GO:0009617~response to bacterium	13	2.64E-04	0.446909
GO:0050777~negative regulation of immune response	6	2.69E-04	0.456834
GO:0045576~mast cell activation	5	3.01E-04	0.510158
GO:0001501~skeletal system development	18	3.10E-04	0.525829
GO:0001817~regulation of cytokine production	12	3.51E-04	0.594308
GO:0019725~cellular homeostasis	20	3.54E-04	0.600276
GO:0032943~mononuclear cell proliferation	7	4.09E-04	0.692968
GO:0070661~leukocyte proliferation	7	4.09E-04	0.692968
GO:0042592~homeostatic process	28	4.16E-04	0.705382
GO:0046649~lymphocyte activation	14	4.58E-04	0.775834
GO:0008201~heparin binding	9	5.23E-04	0.752799
GO:0055066~di-, tri-valent inorganic cation homeostasis	12	5.33E-04	0.902527
GO:0002712~regulation of B cell mediated immunity	6	5.42E-04	0.916244
GO:0002889~regulation of immunoglobulin mediated immune response	6	5.42E-04	0.916244
GO:0008283~cell proliferation	16	5.76E-04	0.973574
GO:0045059~positive thymic T cell selection	4	6.11E-04	1.032486
GO:0048878~chemical homeostasis	20	7.61E-04	1.284615
GO:0005770~late endosome	7	7.81E-04	0.995428
GO:0042742~defense response to bacterium	10	8.26E-04	1.394172
GO:0002697~regulation of immune effector process	9	9.04E-04	1.525404
GO:0042277~peptide binding	12	9.39E-04	1.348093
GO:0002821~positive regulation of adaptive immune response	6	9.81E-04	1.65435
GO:0002824~positive regulation of adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	6	9.81E-04	1.65435
GO:0006690~icosanoid metabolic process	6	9.81E-04	1.65435
GO:0045621~positive regulation of lymphocyte differentiation	6	9.81E-04	1.65435
GO:0002764~immune response-regulating signal transduction	7	0.00115	1.936581
GO:0043368~positive T cell selection	4	0.001265	2.127187
GO:0006672~ceramide metabolic process	6	0.001281	2.154117
GO:0051094~positive regulation of developmental process	14	0.001317	2.214395
GO:0004896~cytokine receptor activity	7	0.001369	1.959831
GO:0001805~positive regulation of type III hypersensitivity	3	0.001543	2.589663
GO:0001803~regulation of type III hypersensitivity	3	0.001543	2.589663
GO:0046519~sphingoid metabolic process	6	0.001643	2.755163
GO:0042613~MHC class II protein complex	4	0.001681	2.132755
GO:0050830~defense response to Gram-positive bacterium	5	0.00169	2.832903
GO:0002683~negative regulation of immune system process	8	0.001742	2.919024
GO:0002696~positive regulation of leukocyte activation	9	0.00194	3.24659
GO:0016023~cytoplasmic membrane-bounded vesicle	22	0.00195	2.470007

GO:0030097~hemopoiesis	15	0.001954	3.268288
GO:0050867~positive regulation of cell activation	9	0.002202	3.677437
GO:0043062~extracellular structure organization	11	0.002261	3.774124
GO:0031988~membrane-bounded vesicle	22	0.002317	2.927887
GO:0045597~positive regulation of cell differentiation	12	0.002332	3.889508
GO:0006633~fatty acid biosynthetic process	8	0.002515	4.18862
GO:0046651~lymphocyte proliferation	6	0.002584	4.30204
GO:0004197~cysteine-type endopeptidase activity	7	0.002766	3.922066
GO:0006910~phagocytosis, recognition	4	0.002864	4.756795
GO:0002864~regulation of acute inflammatory response to antigenic stimulus	4	0.002864	4.756795
GO:0002883~regulation of hypersensitivity	4	0.002864	4.756795
GO:0006665~sphingolipid metabolic process	7	0.002871	4.767513
GO:0002694~regulation of leukocyte activation	11	0.002877	4.777629
GO:0019763~immunoglobulin receptor activity	3	0.0029	4.107963
GO:0045356~positive regulation of interferon-alpha biosynthetic process	3	0.003039	5.040554
GO:0045354~regulation of interferon-alpha biosynthetic process	3	0.003039	5.040554
GO:0046456~icosanoid biosynthetic process	5	0.003117	5.166267
GO:0032680~regulation of tumor necrosis factor production	5	0.003117	5.166267
GO:0050865~regulation of cell activation	11	0.003158	5.232202
GO:0002768~immune response-regulating cell surface receptor signaling pathway	6	0.003179	5.26697
GO:0006643~membrane lipid metabolic process	7	0.00337	5.575462
GO:0042098~T cell proliferation	5	0.003572	5.898849
GO:0006636~unsaturated fatty acid biosynthetic process	5	0.003572	5.898849
GO:0002714~positive regulation of B cell mediated immunity	4	0.003584	5.918366
GO:0002891~positive regulation of immunoglobulin mediated immune response	4	0.003584	5.918366
GO:0002704~negative regulation of leukocyte mediated immunity	4	0.003584	5.918366
GO:0002707~negative regulation of lymphocyte mediated immunity	4	0.003584	5.918366
GO:0006692~prostanoid metabolic process	4	0.003584	5.918366
GO:0006693~prostaglandin metabolic process	4	0.003584	5.918366
GO:0048585~negative regulation of response to stimulus	7	0.003643	6.013883
GO:0032535~regulation of cellular component size	11	0.003956	6.513222
GO:0044459~plasma membrane part	59	0.004202	5.251727
GO:0045061~thymic T cell selection	4	0.004404	7.226513
GO:0048872~homeostasis of number of cells	9	0.00441	7.235363
GO:0051015~actin filament binding	6	0.004602	6.445852
GO:0002757~immune response-activating signal transduction	6	0.004654	7.621095
GO:0042590~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I	3	0.004989	8.147063
GO:0002237~response to molecule of bacterial origin	6	0.005088	8.302882
GO:0002366~leukocyte activation during immune response	5	0.005202	8.480779
GO:0002263~cell activation during immune response	5	0.005202	8.480779
GO:0048534~hemopoietic or lymphoid organ development	15	0.005383	8.763919
GO:0016192~vesicle-mediated transport	21	0.005391	8.776909
GO:0003779~actin binding	15	0.005417	7.546563
GO:0051251~positive regulation of lymphocyte activation	8	0.005761	9.350809
GO:0032675~regulation of interleukin-6 production	5	0.005839	9.472732
GO:0045582~positive regulation of T cell differentiation	5	0.005839	9.472732
GO:0032649~regulation of interferon-gamma production	5	0.005839	9.472732
GO:0051249~regulation of lymphocyte activation	10	0.00589	9.551018
GO:0015629~actin cytoskeleton	13	0.005964	7.377513
GO:0008610~lipid biosynthetic process	15	0.006076	9.838781
GO:0030414~peptidase inhibitor activity	11	0.006239	8.643484
GO:0002673~regulation of acute inflammatory response	4	0.007509	12.02103
GO:0002861~regulation of inflammatory response to antigenic stimulus	4	0.007509	12.02103
GO:0044243~multicellular organismal catabolic process	4	0.007509	12.02103
GO:0045860~positive regulation of protein kinase activity	9	0.007657	12.24399
GO:0030217~T cell differentiation	7	0.00783	12.50391
GO:0002520~immune system development	15	0.008137	12.96301
GO:0030198~extracellular matrix organization	8	0.008461	13.44514

GO:0004857~enzyme inhibitor activity	13	0.008598	11.72667
GO:0044420~extracellular matrix part	8	0.008637	10.51758
GO:0010876~lipid localization	9	0.009199	14.53373
GO:0031349~positive regulation of defense response	6	0.009638	15.1743
GO:0031410~cytoplasmic vesicle	23	0.00976	11.80752
GO:0016049~cell growth	5	0.00981	15.42445
GO:0033674~positive regulation of kinase activity	9	0.010053	15.77567
GO:0002698~negative regulation of immune effector process	4	0.010142	15.90523
GO:0045359~positive regulation of interferon-beta biosynthetic process	3	0.010163	15.93471
GO:0032647~regulation of interferon-alpha production	3	0.010163	15.93471
GO:0045357~regulation of interferon-beta biosynthetic process	3	0.010163	15.93471
GO:0045619~regulation of lymphocyte differentiation	6	0.010355	16.21162
GO:0005044~scavenger receptor activity	5	0.010876	14.61097
GO:0001503~ossification	8	0.010893	16.9819
GO:0008034~lipoprotein binding	4	0.01091	14.65388
GO:0030199~collagen fibril organization	4	0.011635	18.03487
GO:0045058~T cell selection	4	0.011635	18.03487
GO:0031982~vesicle	23	0.01237	14.74032
GO:0051347~positive regulation of transferase activity	9	0.012442	19.16354
GO:0001530~lipopolysaccharide binding	3	0.012754	16.92333
GO:0002708~positive regulation of lymphocyte mediated immunity	5	0.01287	19.75769
GO:0002705~positive regulation of leukocyte mediated immunity	5	0.01287	19.75769
GO:0004175~endopeptidase activity	18	0.013962	18.37983

<i>Large^{myd-/-} vs C57BL 6 meses</i>			
Termo GO	# genes	p-valor	FDR
GO:0006955~immune response	41	1.81E-19	2.96E-16
GO:0006954~inflammatory response	29	3.98E-18	6.52E-15
GO:0006952~defense response	35	4.32E-15	7.09E-12
GO:0044421~extracellular region part	45	2.13E-14	2.61E-11
GO:0009611~response to wounding	30	4.72E-14	7.73E-11
GO:0002252~immune effector process	19	4.77E-13	7.82E-10
GO:0002684~positive regulation of immune system process	22	4.26E-12	6.98E-09
GO:0045087~innate immune response	16	5.94E-11	9.73E-08
GO:0050778~positive regulation of immune response	17	1.99E-10	3.25E-07
GO:0002253~activation of immune response	14	4.47E-10	7.32E-07
GO:0019886~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class II	8	1.58E-09	2.59E-06
GO:0002495~antigen processing and presentation of peptide antigen via MHC class II	8	1.58E-09	2.59E-06
GO:0016064~immunoglobulin mediated immune response	12	2.08E-09	3.40E-06
GO:0002541~activation of plasma proteins involved in acute inflammatory response	10	2.15E-09	3.53E-06
GO:0006956~complement activation	10	2.15E-09	3.53E-06
GO:0048584~positive regulation of response to stimulus	18	2.79E-09	4.58E-06
GO:0019724~B cell mediated immunity	12	2.94E-09	4.82E-06
GO:0006959~humoral immune response	11	6.28E-09	1.03E-05
GO:0002504~antigen processing and presentation of peptide or polysaccharide antigen via MHC class II	8	6.71E-09	1.10E-05
GO:0002443~leukocyte mediated immunity	13	8.18E-09	1.34E-05
GO:0030246~carbohydrate binding	21	1.09E-08	1.49E-05
GO:0031012~extracellular matrix	22	1.22E-08	1.50E-05
GO:0002449~lymphocyte mediated immunity	12	1.63E-08	2.67E-05
GO:0009897~external side of plasma membrane	18	1.91E-08	2.35E-05
GO:0002478~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen	8	3.10E-08	5.08E-05
GO:0005578~proteinaceous extracellular matrix	21	3.25E-08	3.99E-05
GO:0002455~humoral immune response mediated by circulating immunoglobulin	9	3.74E-08	6.13E-05
GO:0051605~protein maturation by peptide bond cleavage	11	4.07E-08	6.68E-05
GO:0002250~adaptive immune response	12	4.76E-08	7.80E-05
GO:0002460~adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	12	4.76E-08	7.80E-05
GO:0016485~protein processing	12	9.85E-08	1.61E-04
GO:0019884~antigen processing and presentation of exogenous antigen	8	1.41E-07	2.30E-04
GO:0051604~protein maturation	12	1.93E-07	3.16E-04
GO:0006958~complement activation, classical pathway	8	2.36E-07	3.86E-04
GO:0009986~cell surface	20	2.48E-07	3.05E-04
GO:0002526~acute inflammatory response	11	3.47E-07	5.69E-04
GO:0005539~glycosaminoglycan binding	12	3.98E-07	5.46E-04
GO:0008009~chemokine activity	8	6.59E-07	9.03E-04
GO:0006935~chemotaxis	12	7.09E-07	0.001162
GO:0042330~taxis	12	7.09E-07	0.001162
GO:0048002~antigen processing and presentation of peptide antigen	8	7.30E-07	0.001197
GO:0042379~chemokine receptor binding	8	7.94E-07	0.001088
GO:0030247~polysaccharide binding	12	1.28E-06	0.001752
GO:0001871~pattern binding	12	1.28E-06	0.001752
GO:0008201~heparin binding	10	1.75E-06	0.002392
GO:0006508~proteolysis	36	4.34E-06	0.007113
GO:0001775~cell activation	16	4.61E-06	0.007558
GO:0045321~leukocyte activation	15	5.56E-06	0.00911
GO:0042110~T cell activation	11	9.55E-06	0.015658
GO:0005764~lysosome	13	2.01E-05	0.02475
GO:0000323~lytic vacuole	13	2.13E-05	0.026189
GO:0019955~cytokine binding	9	2.48E-05	0.033923

GO:0046649~lymphocyte activation	13	3.13E-05	0.051281
GO:0005509~calcium ion binding	27	6.42E-05	0.087874
GO:0007626~locomotory behavior	14	6.58E-05	0.107844
GO:0070011~peptidase activity, acting on L-amino acid peptides	22	6.75E-05	0.092346
GO:0005773~vacuole	13	7.65E-05	0.094128
GO:0008233~peptidase activity	22	1.22E-04	0.167414
GO:0044243~multicellular organismal catabolic process	5	1.28E-04	0.209569
GO:0005125~cytokine activity	11	1.70E-04	0.232046
GO:0004175~endopeptidase activity	17	1.95E-04	0.2672
GO:0019882~antigen processing and presentation	8	3.28E-04	0.536891
GO:0032963~collagen metabolic process	5	3.49E-04	0.570835
GO:0008283~cell proliferation	13	3.58E-04	0.585163
GO:0006957~complement activation, alternative pathway	4	3.70E-04	0.605091
GO:0046651~lymphocyte proliferation	6	3.93E-04	0.64269
GO:0042613~MHC class II protein complex	4	4.01E-04	0.492476
GO:0044259~multicellular organismal macromolecule metabolic process	5	4.14E-04	0.676665
GO:0032943~mononuclear cell proliferation	6	4.40E-04	0.718221
GO:0070661~leukocyte proliferation	6	4.40E-04	0.718221
GO:0044236~multicellular organismal metabolic process	5	5.69E-04	0.928819
GO:0042098~T cell proliferation	5	7.61E-04	1.240754
GO:0004896~cytokine receptor activity	6	8.68E-04	1.181617
GO:0048534~hemopoietic or lymphoid organ development	13	0.001116	1.812904
GO:0007610~behavior	16	0.001189	1.931115
GO:0045582~positive regulation of T cell differentiation	5	0.001276	2.071195
GO:0045621~positive regulation of lymphocyte differentiation	5	0.001608	2.602749
GO:0002520~immune system development	13	0.001684	2.725192
GO:0030574~collagen catabolic process	4	0.001941	3.134901
GO:0050865~regulation of cell activation	9	0.002452	3.944572
GO:0008034~lipoprotein binding	4	0.002717	3.656687
GO:0050870~positive regulation of T cell activation	6	0.003091	4.947369
GO:0050867~positive regulation of cell activation	7	0.004137	6.569195
GO:0005770~late endosome	5	0.004612	5.530158
GO:0030097~hemopoiesis	11	0.004669	7.383602
GO:0045597~positive regulation of cell differentiation	9	0.004933	7.786222
GO:0001817~regulation of cytokine production	8	0.004994	7.878112
GO:0051094~positive regulation of developmental process	10	0.005057	7.974798
GO:0030217~T cell differentiation	6	0.005665	8.892451
GO:0045580~regulation of T cell differentiation	5	0.00573	8.989501
GO:0050863~regulation of T cell activation	7	0.005732	8.991735
GO:0045059~positive thymic T cell selection	3	0.005917	9.270054
GO:0051249~regulation of lymphocyte activation	8	0.006041	9.455113
GO:0045060~negative thymic T cell selection	3	0.007533	11.65739
GO:0005771~multivesicular body	3	0.007945	9.34973
GO:0002694~regulation of leukocyte activation	8	0.008618	13.22702
GO:0043368~positive T cell selection	3	0.009324	14.23422
GO:0043383~negative T cell selection	3	0.009324	14.23422
GO:0002819~regulation of adaptive immune response	5	0.009859	14.99033
GO:0002822~regulation of adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	5	0.009859	14.99033
GO:0019221~cytokine-mediated signaling pathway	5	0.009859	14.99033
GO:0030414~peptidase inhibitor activity	8	0.010106	12.9853
GO:0002697~regulation of immune effector process	6	0.010406	15.75667
GO:0045619~regulation of lymphocyte differentiation	5	0.011128	16.7592
GO:0001914~regulation of T cell mediated cytotoxicity	3	0.011284	16.97379
GO:0030169~low-density lipoprotein binding	3	0.012903	16.2933
GO:0008237~metallopeptidase activity	8	0.013776	17.30144
GO:0005044~scavenger receptor activity	4	0.015628	19.40211

<i>Dmd^{mdx}/Large^{myd-/-} vs C57Bl/6</i> meses			
Termo GO	# genes	p-valor	FDR
GO:0006955~immune response	53	9.85E-29	1.62E-25
GO:0006954~inflammatory response	35	2.73E-23	4.50E-20
GO:0006952~defense response	46	4.10E-23	6.75E-20
GO:0009611~response to wounding	40	7.99E-22	1.32E-18
GO:0030246~carbohydrate binding	30	6.03E-15	8.32E-12
GO:0045087~innate immune response	20	9.39E-15	1.55E-11
GO:0002252~immune effector process	21	1.71E-14	2.82E-11
GO:0030247~polysaccharide binding	19	7.70E-13	1.07E-09
GO:0001871~pattern binding	19	7.70E-13	1.07E-09
GO:0050778~positive regulation of immune response	20	8.56E-13	1.41E-09
GO:0002684~positive regulation of immune system process	23	3.31E-12	5.44E-09
GO:0044421~extracellular region part	46	4.69E-12	5.84E-09
GO:0009986~cell surface	28	1.44E-11	1.79E-08
GO:0002443~leukocyte mediated immunity	16	1.46E-11	2.41E-08
GO:0005539~glycosaminoglycan binding	17	1.56E-11	2.17E-08
GO:0002449~lymphocyte mediated immunity	15	2.03E-11	3.34E-08
GO:0006935~chemotaxis	17	2.68E-11	4.41E-08
GO:0042330~taxis	17	2.68E-11	4.41E-08
GO:0019724~B cell mediated immunity	14	3.61E-11	5.95E-08
GO:0002478~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen	10	5.12E-11	8.44E-08
GO:0002460~adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	15	8.35E-11	1.37E-07
GO:0002250~adaptive immune response	15	8.35E-11	1.37E-07
GO:0002253~activation of immune response	15	1.16E-10	1.91E-07
GO:0048002~antigen processing and presentation of peptide antigen	11	1.55E-10	2.56E-07
GO:0009897~external side of plasma membrane	22	2.25E-10	2.80E-07
GO:0048584~positive regulation of response to stimulus	20	2.29E-10	3.78E-07
GO:0016064~immunoglobulin mediated immune response	13	3.82E-10	6.29E-07
GO:0019884~antigen processing and presentation of exogenous antigen	10	4.03E-10	6.64E-07
GO:0031012~extracellular matrix	26	5.83E-10	7.25E-07
GO:0001775~cell activation	22	7.14E-10	1.18E-06
GO:0005578~proteinaceous extracellular matrix	25	1.35E-09	1.68E-06
GO:0019886~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class II	8	3.04E-09	5.00E-06
GO:0002495~antigen processing and presentation of peptide antigen via MHC class II	8	3.04E-09	5.00E-06
GO:0008201~heparin binding	13	4.13E-09	5.74E-06
GO:0002526~acute inflammatory response	13	7.80E-09	1.28E-05
GO:0019955~cytokine binding	13	8.20E-09	1.14E-05
GO:0002504~antigen processing and presentation of peptide or polysaccharide antigen via MHC class II	8	1.28E-08	2.11E-05
GO:0045321~leukocyte activation	19	2.24E-08	3.69E-05
GO:0050766~positive regulation of phagocytosis	8	5.90E-08	9.72E-05
GO:0008009~chemokine activity	9	8.21E-08	1.14E-04
GO:0007626~locomotory behavior	19	8.58E-08	1.41E-04
GO:0042379~chemokine receptor binding	9	1.02E-07	1.41E-04
GO:0050764~regulation of phagocytosis	8	1.13E-07	1.85E-04
GO:0005764~lysosome	16	1.10E-06	0.001373
GO:0045807~positive regulation of endocytosis	8	1.11E-06	0.001828
GO:0000323~lytic vacuole	16	1.19E-06	0.001474
GO:0019882~antigen processing and presentation	11	1.60E-06	0.002638
GO:0002541~activation of plasma proteins involved in acute inflammatory response	8	1.67E-06	0.002758
GO:0006956~complement activation	8	1.67E-06	0.002758
GO:0006959~humoral immune response	9	2.61E-06	0.004296
GO:0045576~mast cell activation	6	3.06E-06	0.005034
GO:0006911~phagocytosis, engulfment	6	3.06E-06	0.005034
GO:0005773~vacuole	16	6.03E-06	0.007499

GO:0006958~complement activation, classical pathway	7	8.00E-06	0.013184
GO:0007610~behavior	21	1.25E-05	0.020659
GO:0019865~immunoglobulin binding	5	1.57E-05	0.021832
GO:0004896~cytokine receptor activity	8	1.85E-05	0.025658
GO:0002455~humoral immune response mediated by circulating immunoglobulin	7	2.04E-05	0.03364
GO:0030100~regulation of endocytosis	8	2.15E-05	0.035332
GO:0005615~extracellular space	25	2.75E-05	0.034236
GO:0005509~calcium ion binding	30	2.78E-05	0.038617
GO:0019864~IgG binding	4	3.38E-05	0.046951
GO:0060326~cell chemotaxis	6	6.99E-05	0.115089
GO:0030595~leukocyte chemotaxis	6	6.99E-05	0.115089
GO:0032680~regulation of tumor necrosis factor production	6	6.99E-05	0.115089
GO:0004175~endopeptidase activity	19	7.71E-05	0.106975
GO:0051605~protein maturation by peptide bond cleavage	8	9.31E-05	0.153275
GO:0005125~cytokine activity	12	9.59E-05	0.132921
GO:0001817~regulation of cytokine production	11	1.01E-04	0.166609
GO:0016485~protein processing	9	1.17E-04	0.19231
GO:0042110~T cell activation	10	1.27E-04	0.208508
GO:0030593~neutrophil chemotaxis	5	1.45E-04	0.237852
GO:0006909~phagocytosis	7	1.45E-04	0.238893
GO:0002673~regulation of acute inflammatory response	5	1.83E-04	0.301782
GO:0051604~protein maturation	9	1.84E-04	0.302172
GO:0051130~positive regulation of cellular component organization	10	1.86E-04	0.30621
GO:0050865~regulation of cell activation	11	2.61E-04	0.429373
GO:0002822~regulation of adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	7	3.06E-04	0.503343
GO:0002819~regulation of adaptive immune response	7	3.06E-04	0.503343
GO:0046649~lymphocyte activation	12	3.28E-04	0.538487
GO:0031349~positive regulation of defense response	7	3.38E-04	0.554781
GO:0070011~peptidase activity, acting on L-amino acid peptides	22	3.43E-04	0.47525
GO:0060627~regulation of vesicle-mediated transport	8	4.32E-04	0.709783
GO:0001819~positive regulation of cytokine production	7	5.34E-04	0.876414
GO:0008233~peptidase activity	22	5.97E-04	0.825834
GO:0046651~lymphocyte proliferation	6	6.03E-04	0.987943
GO:0070661~leukocyte proliferation	6	6.73E-04	1.10251
GO:0032943~mononuclear cell proliferation	6	6.73E-04	1.10251
GO:0050900~leukocyte migration	6	6.73E-04	1.10251
GO:0001803~regulation of type III hypersensitivity	3	8.03E-04	1.314313
GO:0001805~positive regulation of type III hypersensitivity	3	8.03E-04	1.314313
GO:0008283~cell proliferation	13	8.22E-04	1.346079
GO:0002694~regulation of leukocyte activation	10	0.001027	1.677601
GO:0042098~T cell proliferation	5	0.001079	1.762313
GO:0002864~regulation of acute inflammatory response to antigenic stimulus	4	0.001119	1.827151
GO:0002883~regulation of hypersensitivity	4	0.001119	1.827151
GO:0006910~phagocytosis, recognition	4	0.001119	1.827151
GO:0002757~immune response-activating signal transduction	6	0.00112	1.828354
GO:0002237~response to molecule of bacterial origin	6	0.00123	2.007462
GO:0004857~enzyme inhibitor activity	12	0.001233	1.697124
GO:0019763~immunoglobulin receptor activity	3	0.001352	1.860096
GO:0050867~positive regulation of cell activation	8	0.001396	2.274358
GO:0002714~positive regulation of B cell mediated immunity	4	0.001407	2.292214
GO:0002891~positive regulation of immunoglobulin mediated immune response	4	0.001407	2.292214
GO:0006692~prostanoid metabolic process	4	0.001407	2.292214
GO:0006693~prostaglandin metabolic process	4	0.001407	2.292214
GO:0002712~regulation of B cell mediated immunity	5	0.001407	2.29299
GO:0002889~regulation of immunoglobulin mediated immune response	5	0.001407	2.29299
GO:0030414~peptidase inhibitor activity	10	0.001481	2.036135
GO:0051050~positive regulation of transport	9	0.00154	2.506122

GO:0032101~regulation of response to external stimulus	8	0.001564	2.545253
GO:0002764~immune response-regulating signal transduction	6	0.001611	2.621225
GO:0032760~positive regulation of tumor necrosis factor production	4	0.001737	2.823402
GO:0002824~positive regulation of adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	5	0.002262	3.661576
GO:0002821~positive regulation of adaptive immune response	5	0.002262	3.661576
GO:0006690~icosanoid metabolic process	5	0.002262	3.661576
GO:0050727~regulation of inflammatory response	6	0.002429	3.926664
GO:0042590~antigen processing and presentation of exogenous peptide antigen via MHC class I	3	0.002618	4.226717
GO:0004197~cysteine-type endopeptidase activity	6	0.002658	3.625762
GO:0051249~regulation of lymphocyte activation	9	0.00266	4.292808
GO:0033559~unsaturated fatty acid metabolic process	5	0.0028	4.514167
GO:0005044~scavenger receptor activity	5	0.002812	3.83198
GO:0002861~regulation of inflammatory response to antigenic stimulus	4	0.003004	4.834859
GO:0042277~peptide binding	9	0.003077	4.186237
GO:0004866~endopeptidase inhibitor activity	9	0.00321	4.36356
GO:0002697~regulation of immune effector process	7	0.003306	5.309154
GO:0008034~lipoprotein binding	4	0.003762	5.094849
GO:0010324~membrane invagination	10	0.003996	6.382244
GO:0006897~endocytosis	10	0.003996	6.382244
GO:0002706~regulation of lymphocyte mediated immunity	6	0.004309	6.866794
GO:0043235~receptor complex	7	0.004396	5.332982
GO:0002429~immune response-activating cell surface receptor signaling pathway	5	0.004516	7.183962
GO:0042108~positive regulation of cytokine biosynthetic process	5	0.004927	7.814547
GO:0050798~activated T cell proliferation	3	0.00538	8.50249
GO:0045357~regulation of interferon-beta biosynthetic process	3	0.00538	8.50249
GO:0045359~positive regulation of interferon-beta biosynthetic process	3	0.00538	8.50249
GO:0002768~immune response-regulating cell surface receptor signaling pathway	5	0.005825	9.175193
GO:0002696~positive regulation of leukocyte activation	7	0.005891	9.273776
GO:0002703~regulation of leukocyte mediated immunity	6	0.005911	9.303375
GO:0001530~lipopolysaccharide binding	3	0.006062	8.090957
GO:0032403~protein complex binding	6	0.006651	8.844176
GO:0001796~regulation of type IIa hypersensitivity	3	0.007096	11.06789
GO:0001798~positive regulation of type IIa hypersensitivity	3	0.007096	11.06789
GO:0001810~regulation of type I hypersensitivity	3	0.007096	11.06789
GO:0002888~positive regulation of myeloid leukocyte mediated immunity	3	0.007096	11.06789
GO:0002892~regulation of type II hypersensitivity	3	0.007096	11.06789
GO:0002894~positive regulation of type II hypersensitivity	3	0.007096	11.06789
GO:0002683~negative regulation of immune system process	6	0.008336	12.88024
GO:0046456~icosanoid biosynthetic process	4	0.009658	14.77333
GO:0050670~regulation of lymphocyte proliferation	6	0.010291	15.6663
GO:0032944~regulation of mononuclear cell proliferation	6	0.010291	15.6663
GO:0042060~wound healing	7	0.010556	16.03793
GO:0006636~unsaturated fatty acid biosynthetic process	4	0.010687	16.22098
GO:0002885~positive regulation of hypersensitivity	3	0.011159	16.87638
GO:0002866~positive regulation of acute inflammatory response to antigenic stimulus	3	0.011159	16.87638
GO:0001516~prostaglandin biosynthetic process	3	0.011159	16.87638
GO:0046457~prostanoid biosynthetic process	3	0.011159	16.87638
GO:0042116~macrophage activation	3	0.011159	16.87638
GO:0070663~regulation of leukocyte proliferation	6	0.011377	17.17798
GO:0006508~proteolysis	28	0.011594	17.47776
GO:0042613~MHC class II protein complex	3	0.013983	16.0684

C. Parecer do Comitê de Ética

OF.CEUA/IB/014/2014

São Paulo, 21 de março 2014

Prezada Senhora,

Dirijo-me a V.Sa. para informar que a Comissão de Ética no Uso de Animais do IB (CEUA), em reunião realizada no dia 20 de março de 2014, **APROVOU** o Projeto "Identificação e estudo de genes diferencialmente expressos em modelos murinos de distrofia muscular", **Protocolo 200/2014**, de sua responsabilidade (Colaboradora: Camila de Freitas Almeida).

A pesquisadora responsável deverá comunicar a esta Comissão qualquer alteração e/ou intercorrência que houver durante a realização da pesquisa.

Lembramos que deverão ser apresentados os relatórios anuais ou final, conforme modelo disponível no link desta Comissão.

Atenciosamente,

Profa. Dra. Mariz Vainzof
Coordenadora da Comissão de Ética no
Uso de Animais do IB (CEUA)

Ilma. Sra.

Profa. Dra. MARIZ VAINZOF

Departamento de Genética e Biologia Evolutiva - IB