

# Toxicogenômica e Toxicologia: Parte I. As ciências “ômicas”

Hugo Takeda Caetano

Mestre pelo programa de Biologia Funcional e Molecular na área de Bioquímica pela Universidade Estadual de Campinas em 2009. Biólogo nas modalidades bacharelado e licenciatura pela Universidade Estadual de Campinas em 2005.

Pós graduando no programa de Especialização lato sensu em Biotecnologia: Biocombustíveis, Meio Ambiente e Agronegócios, Alimentos e Biofármacos pelas Faculdades Oswaldo Cruz. Analista de Gerenciamento de Risco Toxicológico na Intertox Ltda.

**RESUMO**

Incontáveis são as substâncias químicas presentes no ambiente. No entanto, comparativamente, para poucas há as informações sobre seus efeitos tóxicos à saúde dos seres humanos e ao meio ambiente. Aliado à preocupação causada pelos perigos químicos e conseqüentemente à sua prevenção, e ao crescente interesse por métodos alternativos de pesquisa que usem cada vez um número menor de animais em experimentação, faz-se necessária a elaboração de novas perspectivas a fim de se refinar cada vez mais nossa capacidade de avaliação sobre a toxicidade dos compostos químicos que nos cercam. Para tanto, novas abordagens e tecnologias surgiram ao longo dos últimos anos com o intuito de aprimorar os métodos preditivos da toxicologia convencional. A biologia molecular aparece então como poderosa ferramenta que, aliada à toxicologia, nos remete a outro campo do conhecimento, a toxicogenômica. Técnicas já amplamente usadas na pesquisa genômica e transcriptômica, como análise por microarrays de DNA e reação em cadeia da polimerase (PCR); em proteômica, como purificação e identificação de proteínas por eletroforese bidimensional (2DE) e espectrometria de massas; e na metabolômica, como o uso de biomarcadores, caracterizam-se como os principais meios para o desenvolvimento e a aplicação prática desse novo campo.

*Palavras-chaves: toxicogenômica; genômica; proteômica.*

**ABSTRACT**

The chemicals present in the environment are countless. However, comparatively, only some have informations about their toxic effects to human health and environment. Allied to the concern caused by chemical hazards and its prevention, and by the growing interest in alternative research methods that use increasingly fewer animals in experimentation, it is necessary to draw up new perspectives in order to refine our ability to assess the toxicity of chemicals that surround us. Therefore, new approaches and technologies have emerged over the recent years in order to enhance the predictive methods of conventional toxicology. Molecular biology arises as a powerful tool that, combined with toxicology, leads to another field of knowledge, the toxicogenomics. Techniques widely used in genomics and transcriptomics research, such as DNA microarray analysis and polymerase chain reaction (PCR), in proteomics , such as purification and identification of proteins by two-dimensional electrophoresis (2DE) and mass spectrometry, and metabolomics, as the use of biomarkers , are characterized as the principal means for the development and the practical application of this new field.

*Key-words -- toxicogenomics; genomics; proteogenomics.*

## INTRODUÇÃO

A Toxicologia pode ser conceituada como o estudo dos toxicantes ou estressores e seus efeitos adversos sobre organismos vivos. Para tanto, ela lida com a identificação do perigo, os mecanismos toxicológicos envolvidos e a avaliação do risco. O aumento da compreensão acerca dos mecanismos de ação das substâncias químicas é etapa fundamental para aprimorar a eficiência de tais tarefas. Contudo, o conhecimento sobre os mecanismos de ação evolui na direção do estudo de alguns genes de uma só vez a fim de compreender a função destes genes na mediação dos efeitos tóxicos. Este processo tem de ser acelerado para controlar e discernir tais efeitos nos milhares de novos compostos desenvolvidos pelas indústrias químicas e farmacêuticas (Hamadeh et al, 2002).

Compostos químicos são potencialmente nocivos para os seres vivos. De fato, existem milhares de substâncias químicas no meio ambiente. Muitas delas são de origem natural, enquanto outras são intencionalmente produzidas pelo homem para os mais variados fins, e outras ainda são consequências da poluição causada pelas atividades industriais. Paradoxalmente, com exceção dos compostos químicos produzidos para fins terapêuticos (fármacos), cosméticos, aditivos alimentares e pesticidas, que são obrigatoriamente sujeitos a uma mínima prévia avaliação de toxicidade antes da sua introdução no mercado, existe uma falta de informação sobre a toxicidade potencial da grande maioria de substâncias químicas existentes no ambiente (Reis, 2006).

A avaliação da toxicidade dos compostos químicos compreende os ensaios de toxicidades aguda, subaguda e crônica, ou seja, curto, médio e longo prazos. A maior parte dos ensaios de avaliação das toxicidades subaguda e crônica são efetuados mediante a monitorização dos efeitos observados nas células, tecidos, órgãos ou no organismo inteiro. Ensaio de toxicidade requerem, para a sua execução, grandes investimentos não só de ordem econômica, como também de elevado número de animais, já para não mencionar o lapso de tempo necessário. Para cada composto em estudo

estima-se que os custos podem atingir o equivalente a 2 milhões de euros e a utilização de cerca de 4000 animais (Reis, 2006).

Ainda que a experimentação animal seja correntemente utilizada nos métodos de avaliação da toxicidade, ela padece de várias limitações. Em primeiro lugar, os elevados custos e o tempo necessário fazem com que a experimentação animal em grande escala seja difícil ou mesmo impraticável. Por exemplo, os estudos do potencial carcinogênico de um único composto em ensaios com roedores podem prolongar-se aproximadamente por três anos e atingir custos da ordem dos milhões de euros. Neste contexto, apesar de polêmica, é de se esperar alguma relutância da parte da indústria. Assim, na indústria farmacêutica, os ensaios de toxicidade de novas moléculas implicam um considerável atraso na recuperação dos investimentos aplicados em pesquisa e desenvolvimento. Além disso, a extrapolação de estudos em animais para os seres humanos nem sempre é fiável. Os estudos de farmacogenética experimental desde há muito revelaram a existência de diferenças importantes entre animais e seres humanos e mesmo entre diferentes raças da mesma espécie em termos de respostas farmacológicas. Tal circunstância justifica certo grau de incerteza nos aspectos preditivos dos resultados da experimentação animal. E, por consequência, reforça a necessidade de métodos e técnicas alternativas de índole mecanicista que sejam mais econômicos, mais rápidos, e que permitam poupar o sacrifício de milhares de animais. Ou seja, métodos com maior valor preditivo do que os baseados na experimentação animal (Reis, 2006).

Desde então tem sido tomadas algumas medidas como, por exemplo, a substituição dos animais por outros sistemas biológicos (culturas de células e tecidos, células estaminais, bactérias, invertebrados, etc.), além também dos casos e situações em que se pode lançar mão da solução computacional para a avaliação da toxicidade, a chamada Toxicologia in silico (Santos, 2013).

### As ciências “ômicas”

O advento das tecnologias genômicas, proteômicas, transcriptômicas e metabolômicas proporcionou grandes avanços na nossa compreensão dos detalhes moleculares da biologia tradicional, mantendo a promessa de oferecer novos discernimentos sobre os mecanismos moleculares de vários tipos de toxicidades (Cunningham, 2004), aplicando a expressão gênica ao entendimento químico e aos efeitos estressores em sistemas biológicos. Estes avanços tecnológicos levaram ao desenvolvimento do campo da toxicogenômica, cuja proposta é aplicar as tecnologias relacionadas à análise global de mRNA, proteínas e metabólitos a fim de estudar os efeitos dos perigos químicos no organismos. A abordagem coletiva de todas essas técnicas permitirá o desenvolvimento de uma base de conhecimento sobre os efeitos dos compostos químicos, que servirá para melhorar a eficácia e a eficiência da avaliação da segurança e risco de medicamentos e produtos químicos, possibilitando melhor compreensão dos mecanismos pelos quais danos induzidos por estressores químicos ocorrem (Hamadeh et al, 2002).

As moléculas de mRNA extraídas das células e tecidos são analisadas com técnicas de microarrays de DNA, utilizando como sondas o DNA complementar (cDNA) obtido do RNAm por transcriptase reversa ou matrizes de oligonucleotídeos do próprio DNA. Assim, é possível proceder a uma análise diferencial do transcriptoma global nas células ou tecidos expostos a diferentes xenobióticos.

Na aplicação da transcriptômica à toxicologia, os investigadores devem prestar particular atenção aos genes mais susceptíveis de reagir a fatores ambientais. Estes genes tendem a se agrupar em várias categorias tais como as que são controladoras do ciclo celular, a divisão e estrutura das células, a reparação do DNA, a apoptose e o metabolismo (Reis, 2006).

Com o advento do estudo do genoma, os genes têm sido descobertos aos milhares, incluindo muitos que codificam proteínas sem funções ainda conhecidas (hipotéticas). Diversos projetos de sequenciamento genômico feitos nos últimos anos lançaram novas percepções sobre os mecanismos de

funcionamento celular responsáveis pela regulação da fisiologia dos organismos sequenciados. No entanto, toda essa informação ainda não é suficiente, sendo necessária a complementação desses dados genéticos com a determinação dos níveis de expressão de proteínas e mRNA, codificados por esses genes sob diferentes condições.

A fim de descrever todo o perfil proteico codificado por esses genes de um dado organismo em determinadas condições fisiológicas ou experimentais, os pesquisadores cunharam o termo proteoma. A análise do proteoma é cada vez mais importante e informativa para a compreensão da função da sequência genômica, pois visa o estudo das várias propriedades das proteínas como sua sequência, atividade e estrutura. Ela permite determinar quais proteínas são condicionalmente expressas, seus níveis de expressão, sua distribuição dentro de uma célula e a ocorrência de modificações pós-traducionais.

A proteômica trata assim da análise sistemática das proteínas expressas nos tecidos, através do isolamento, separação, identificação e caracterização funcional das proteínas em uma célula, tecido ou organismo. Sob a luz da toxicogenômica, a proteômica envolve o entendimento funcional e a expressão e validação de determinadas proteínas em resposta a uma exposição a um composto tóxico (Hamadeh, 2002). Além da tradicional técnica de eletroforese bidimensional (2DE), técnicas baseadas em espectrometria de massa, tanto baseadas em métodos de ionização por MALDI (matrix-assisted laser desorption/ionization) quanto por ESI (electrospray ionization), são as mais utilizadas na avaliação da toxicidade em medicamentos (Gao, 2009).

A transcriptômica, bem como a proteômica e a metabolômica, produziram uma grande quantidade de informações que continua em crescimento exponencial. O tratamento global desta informação requer o auxílio da bioinformática ou do que vem sendo designado de ciência computacional. A biologia computacional tornou-se uma ferramenta imprescindível para coordenação e sistematização da enorme quantidade de

informação adquirida das novas tecnologias “ômicas”. Na biologia de sistemas estudam-se os genes, os mRNA, as proteínas e metabólitos num organismo (através das tecnologias já referidas), de modo a quantificar as alterações da expressão gênica em resposta a uma perturbação específica, por exemplo, a exposição a xenobióticos. Com base na informação recolhida são gerados no computador modelos matemáticos interpretativos que devem posteriormente ser testados para se comprovar sua validade (Reis, 2006).

### **Conclusão**

Ao longo dos últimos anos pudemos observar uma exploração avançada da toxicologia nas áreas da genética e genômica, com ênfase especial em processos de mutagênese e de carcinogênese ambiental, avaliação do risco e aplicações práticas, tanto para medicamentos quanto alimentos, sem que se esqueça dos contaminantes ambientais. Uma de suas bases são os ensaios de curta-duração e seu poder preditivo para detecção de atividade cancerígena. Outra, são os ensaios de mutagênese em ratos transgênicos, com pesquisa dos mecanismos de ação e de novos modelos transgênicos com inativação de genes de reparação de DNA ou de outros genes críticos do câncer. Estuda-se, também, a determinação de polimorfismos genéticos, haplotipos e modelos associados à previsão de susceptibilidade individual para doença oncológica (Fausto, 2010).

A toxicologia genética tem foco nos genotóxicos ambientais, sua absorção, distribuição, metabolismo, excreção e efeitos no genoma, e avaliação do risco envolvido. Entre suas aplicações destacamos: diagnóstico de doenças genéticas, vigilância da terapêutica, desenvolvimento de novos fármacos, autorização de introdução no mercado de novos medicamentos de uso humano e veterinário e de aditivos alimentares (Azevedo, 2010).

O custo do desenvolvimento de medicamentos tem aumentando nos últimos anos, e o custo médio estimado de um composto rentável é estimado em mais de U\$1,7 bilhões. Entretanto, o número de novos medicamentos aprovados por ano é relativamente uniforme. Uma das razões para o

problema incluem as dificuldades no processo de validação (Guengerich, 2011).

É incontroverso o interesse da aplicação das tecnologias genômicas ao estudo da toxicologia de compostos químicos, tal como se demonstra pela emergência do campo da toxicogenômica (Reis, 2006). Um dos possíveis benefícios proporcionados pela estratégia toxicogenômica reside na descoberta e desenvolvimento de novos medicamentos para indústrias farmacêuticas. As indústrias de cosméticos e de aditivos alimentares também estão entre as mais interessadas na validação destas técnicas.

As técnicas toxicogenômicas poderão tornar-se alternativas ou complementares das técnicas correntemente utilizadas nos protocolos de avaliação da toxicidade. Entretanto, a aplicação das novas tecnologias “ômicas” não fica limitada aos fármacos ou moléculas candidatas a fármacos. Têm igualmente sido aplicadas a outros compostos químicos no âmbito da toxicogenômica (Reis, 2006).

### **Referências bibliográficas**

- AZEVEDO, F.A. A toxicologia e o futuro. **Revista intertox de toxicologia, risco ambiental e sociedade**, vol. 3, n° 3, out. 2010.
- CUNNINGHAM, M.L. Applying toxicogenomics in mechanistic and predictive toxicology. **Toxicological sciences**. 83: 205-206. 2005.
- GAO, Y., HOLLAND, R.D., Yu, L.R. Quantitative proteomics for drug toxicity. **Briefings in functional genomics and proteomics**. Vol.8, n.2, 158-166, 2009.
- GUENGERICH, F.P. Mechanisms of drug toxicity and relevance to pharmaceutical development. **Drug metab. Pharmacokinet**. 26 (1): 3-14, 2011.
- HAMADEH, H.K., AMIN, R.P., PAULES, R.S., AFSHARI, C.A. An overview of toxicogenomics. **Curr. Issues mol. Biol.**, 4: 45-56, 2002.
- REIS, L. Toxicogenômica na avaliação de compostos químicos. **Rev. Lusófona de ciências e tecnologias da saúde**. (3)1:37-52, 2006.

SANTOS, C.E.M. **Toxicologia *In Silico*, Fundamentos e Aplicações**. Editora Plêiade. São Paulo, 2013.