

O conceito de gene está em crise. A farmacogenética e a farmacogenômica também?

Vanessa Fontana¹
Ana Cristina Puhl¹
Fernanda Pedrini¹
Miriam Falkenberg¹
Jaime Cofre^{2*}

¹Laboratório de Química Farmacêutica (CIF/CCS/UFSC)

²Laboratório de Embriologia Molecular, BEG, sala 313b Campus Universitário, UFSC
Bairro Trindade – CEP 88040-900.

*Autor para correspondência
geofre@ccb.ufsc.br

Submetido em 27/06/2005

Aceito para publicação em 10/02/2006

Resumo

Sabe-se bem que a eficácia de determinados fármacos varia de indivíduo para indivíduo, dependendo em parte da variação dos genes que codificam as proteínas alvos ou enzimas metabolizadoras. A farmacogenética, como muitos outros ramos das ciências biomédicas, foi impulsionada pelos avanços recentes da genômica, que conduziram às expectativas de que a segurança e a eficácia dos medicamentos seriam melhoradas notavelmente pela personalização da terapêutica, com base nos dados genéticos dos pacientes. Neste trabalho discutimos como a crise do conceito molecular do gene afeta a premissa seguida pela farmacogenética e como o surgimento de novos paradigmas na biologia molecular e do desenvolvimento sinalizam a impossibilidade de reduzir a complexidade biológica a uma fita de ADN ou a polimorfismos de único nucleotídeo, afetando as perspectivas de individualizar a farmacoterapia nos moldes idealizados, com o medicamento certo, na dose certa, para cada paciente.

Unitermos: gene, dogma central, farmacogenética, farmacogenômica

Abstract

The concept of gene is in crisis. Does it affect pharmacogenetics and pharmacogenomics? It is well known that the efficacy of certain drugs varies from individual to individual, depending in part on variation in the genes that encode drug metabolizing enzymes or target proteins. Like many other branches of the biomedical sciences, pharmacogenetics has been invigorated by recent advances in genomics, which has led to expectations that the safety and efficacy of medicines will soon be notably improved by personalization of therapeutics based on genetic data. Here we discuss how the crisis of the molecular gene concept affects the premise traced by pharmacogenetics and how the sprouting of new paradigms in molecular and developmental biology points out the impossibility of reducing biological complexity to a DNA strand and single nucleotide polymorphism, affecting the main aim of pharmacotherapy which is to provide the right drug for the right patient at the right dose.

Key words: gene, pharmacogenetics, pharmacogenomics

Introdução

A farmacogenética consiste no estudo das variações interindividuais na seqüência de DNA, relacionadas com a resposta a fármacos, eficácia e segurança dos mesmos (Hughes, 1999). Por outro lado, a farmacogenômica, em 1995, surgiu da união da farmacogenética com a genômica e a biotecnologia (Nebert e Vesell, 2004). A farmacogenômica é definida como o estudo da expressão de genes individuais relevantes na susceptibilidade a doenças, bem como resposta a fármacos em nível celular, tecidual, individual ou populacional (Pirazzoli e Recchia, 2004), procurando também uma relação entre o metabolismo de drogas e os estudos moleculares de ADN ou ARN (Azevêdo, 2004). A farmacogenômica utiliza as técnicas genômicas como o seqüenciamento de DNA, mapeamento genético e bioinformática para facilitar pesquisas na identificação das bases genéticas da variação interindividual e interracial na eficácia, metabolismo e transporte de fármacos (Mancinelli et al., 2000). Ainda é conceituada como o estudo das bases genéticas para as diferentes respostas a fármacos entre indivíduos com o objetivo de direcionar a prescrição de acordo com o genótipo individual (Destenaves e Thomas, 2000).

Assim, enquanto a farmacogenética investiga um limitado número de genes, a farmacogenômica é baseada na informação da atividade funcional e na diferente expressão também de um número limitado de genes em áreas relacionadas com a etiologia da doença. Ambas as disciplinas têm a mesma proposta, entender as razões que levam às diferentes respostas humanas aos xenobióticos (Arranz e Kerwin, 2003).

O problema da terapia atual

Atualmente a prescrição de medicamentos é feita essencialmente com base no diagnóstico e em eventuais comorbidades que levem o clínico a dar preferência a um ou outro medicamento em função de potenciais efeitos adversos ou de alguma peculiaridade do paciente, relacionada especialmente à idade, função hepática e/ou renal, gestação ou lactação. Mesmo as tentativas de individualização da terapêutica, ao se considerar o paciente como um todo, não se costuma levar em conta as diferenças interindividuais relacionadas a fatores genéti-

cos que podem interferir tanto na eficácia quanto na toxicidade dos fármacos. (Berry, 2001; Johnson e Evans, 2002). Estima-se que somente um terço dos indivíduos obtém benefícios terapêuticos a partir de medicamentos prescritos, enquanto em dois terços, o medicamento não atua como esperado ou é pouco tolerado (Norton, 2001).

As taxas de eficácia para a terapia medicamentosa variam de 25-80%, dessa forma, até as mais efetivas terapias falham em 20% ou mais dos pacientes tratados (Johnson e Evans, 2002). Com relação aos antidepressivos 30-40% dos enfermos não respondem adequadamente ao tratamento inicial e por vezes leva-se até seis semanas para caracterizar que um dado medicamento não está sendo efetivo para um tratamento específico (Lima et al., 2004).

Os aspectos médicos, sociais e econômicos associados com efeitos adversos de fármacos têm sido destacados por muitos estudos. Um deles recentemente forneceu um cenário completo do impacto de efeitos adversos relacionados a fármacos corretamente prescritos. Assim, em um ano nos Estados Unidos, foram observadas reações adversas em cerca de cinco milhões de pessoas, sendo que dois milhões foram reações sérias e mais de 100.000 fatais. Estes dados apontaram a morte por efeitos adversos como a quarta dentre as seis causas de morte mais frequentes nos Estados Unidos. Em relação aos aspectos econômicos, estimou-se em 76,6 bilhões de dólares o custo da morbidade e mortalidade associadas a fármacos (Destenaves e Thomas, 2000; Pirazzoli e Recchia, 2004).

Como o fármaco atua

A maioria dos fármacos age a partir da interação com proteínas carreadoras, transportadoras ou enzimas de metabolização. Essas proteínas determinam a absorção, distribuição, excreção, a chegada ao sítio de ação e a resposta farmacológica propriamente dita (Mancinelli et al., 2000). As variações genéticas, tanto no alvo molecular quanto nos genes envolvidos na doença e as enzimas que metabolizam o fármaco podem ser determinantes para a eficácia e/ou a toxicidade do fármaco (Ginsburg e McCarthy, 2001). Portanto a resposta individual a um determinado fármaco depende de fatores genéticos, existindo, logicamente, nesta equação

outros fatores não-genéticos, como interações medicamentosas, fatores ambientais, estado de saúde ou doença do paciente (Ginsburg e McCarthy, 2001; Yagil e Yagil, 2002).

O dogma central

Logo após de ter proposto, juntamente com Watson, o modelo da dupla hélice, Crick afirmou que a seqüência de bases do ADN é a chave para a construção de uma proteína particular e que a informação genética possui um fluxo unidirecional que depois ficaria conhecido como dogma central (Crick, 1957). O ADN é constituído de bases nitrogenadas (adenina, guanina, timina e citosina) cuja seqüência determina também a seqüência de aminoácidos das proteínas. A seqüência de bases do ADN é transcrita em ARN mensageiro no núcleo da célula e esta informação é traduzida por uma maquinaria do citoplasma celular que envolve aminoacil-ARNt-sintetases, ARNt e ribossomos de maneira que conjuntos específicos de três bases (códon) codificam um aminoácido. Em uma época anterior ao dogma central o gene foi historicamente considerado como um locus fixo de estrutura e função. Por outro lado, existia também uma noção arraigada que os genes eram os agentes, por exemplo, do desenvolvimento embrionário sem requerer de nenhuma explicação elaborada (Keller, 2000a; Morange, 2000) e foi atribuído aos genes tacitamente o poder de ação mesmo na ausência de qualquer informação sobre como eles poderiam agir. Quase paralelamente com o surgimento do dogma central da biologia o conceito de gene ganha um perfil diferente com a introdução dos conceitos de genes reguladores e estruturais e quando Jacques Monod propôs a metáfora de programa genético foi encontrada implicitamente uma maneira de solucionar o dilema de Morgan que segue a heurística explanatória de incorporar ao conceito de gene uma capacidade de agência (Falk, 2000) e controle que transforma os simples genes identificados como fragmentos de ADN em entidades naturais capazes de interagir, reagir como organismos, órgãos, tecidos ou células (Botelho, 2003) e até os genes materializavam algo que estava bem perto de possuir juízo (Keller, 2000b). Na visão tradicional os genes, portanto, controlam a síntese de uma molécula de ARN mensageiro que, por sua vez, controla a

síntese de um polipeptídeo. Mesmo que sejam as proteínas que constituem, de forma isolada ou agindo em complexos protéicos, a base do que conhecemos como fenótipo, este fenótipo no contexto tradicional está sob controle do gene molecular clássico (neste trabalho será chamado de gene molecular) (Sternly e Griffiths, 1999). A genética tinha encontrado supostamente uma entidade explicativa que unificava a biologia e para todos havia sido descoberta a molécula da vida (Botelho, 2003).

Polimorfismos genéticos

Dentro do conceito de gene molecular que domina os fundamentos da genética atual, os polimorfismos genéticos são diferenças de ocorrência natural e muitos deles não causam efeito algum, porém, alguns afetam a expressão e função de proteínas, resultando em fenótipos susceptíveis a doenças e com respostas diferenciadas aos medicamentos (Walker e Rapley, 1999). O genoma dos indivíduos tem 99,9% de similaridade, diferindo apenas em 0,1% que corresponde a três milhões de polimorfismos, chamados de polimorfismos de único nucleotídeo (*SNP-single nucleotide polymorphism*). Dentre os polimorfismos no genoma, os SNPs correspondem a aproximadamente 90% das variações interindividuais, algumas das quais podem estar relacionadas com respostas diferenciadas aos medicamentos (Yagil e Yagil, 2002).

A ocorrência de SNPs no genoma humano é de aproximadamente um SNP para cada 800 pares de bases, ocorrendo na forma de substituição, deleção ou inserção de uma base nitrogenada. Quando o polimorfismo ocorre em uma região codificante do gene, pode afetar a seqüência de aminoácidos da proteína e alterar a função da mesma. Assim, fica claro que uma variação na seqüência, das bases nitrogenadas pode afetar tanto a estrutura da proteína como suas propriedades físico-químicas ou, em alguns casos, alterar a síntese da proteína envolvida no metabolismo do fármaco ou especificamente o próprio alvo do fármaco, resultando em variação interindividual na resposta ao tratamento (Trotta et al., 2004).

Os polimorfismos genéticos em enzimas metabolizadoras permitem a distinção de três subgrupos com diferentes capacidades de transformar fármacos em

metabólitos (que podem ser ativos ou inativos). Indivíduos capazes de metabolizar os fármacos com eficiência são chamados metabolizadores rápidos. Os que têm deficiência no metabolismo, devido à mutação ou deleção em ambos os alelos do gene, são denominados metabolizadores lentos. Ainda, indivíduos com uma super expressão da enzima são chamados metabolizadores ultra-rápidos. Metabolizadores lentos podem apresentar reações adversas, toxicidade ou diminuição da eficácia com doses-padrão de um determinado fármaco. Porém, para um metabolizador ultra-rápido, a dose padrão pode ser insuficiente para produzir o efeito desejado, ou, ao contrário, caso o metabólito seja a substância ativa, esta dose padrão pode resultar em efeitos tóxicos, pelo fato do organismo atingir rapidamente concentrações mais elevadas do metabólito ativo do que as obtidas em indivíduos com capacidade normal de metabolismo para o fármaco em questão. A importância da investigação de polimorfismos deve-se ao fato de que, uma vez identificado e caracterizado em termos de expressão, funcionalidade e frequência, torna-se possível uma associação do polimorfismo com a doença e sua progressão ou o efeito de um fármaco (Norton, 2001).

Projeto Genoma Humano

A investigação de polimorfismos foi estimulada a partir do Projeto Genoma Humano que trouxe inúmeros benefícios para a biologia: o desenvolvimento de novas tecnologias, a geração de mapas genéticos, físicos e de transcrição do genoma de vários organismos, o desenvolvimento de um programa de pesquisa científica em paralelo com um programa de pesquisa em bioética, e principalmente a seqüência do genoma humano livre e acessível para todos (Collins et al., 2003).

O sucesso do mapeamento e seqüenciamento do genoma humano favoreceu a descoberta de genes associados a doenças. A aplicação clínica da farmacogenômica ocorreu pela possibilidade de prever, a partir de testes genéticos, efeitos benéficos e/ou adversos em determinado paciente. Segundo Norton (2001), "...com o advento do Projeto Genoma Humano e a recente conclusão do seqüenciamento do genoma humano, o mundo científico se volta para a revolução genômica e suas conseqüências no desenvolvimento de novos fármacos e na

terapia individualizada, almejando o fármaco certo para a paciente certo e na dose certa...".

A indústria tem demonstrado um grande interesse na fundação de um empreendimento colaborativo com o setor público com vistas a divulgação de um mapa universal de SNPs através do genoma humano (Chamberlain e Joubert, 2001). O *SNP Consortium*, uma organização sem fins lucrativos, foi criado em abril de 1999 pela *Wellcome trust* e dez grandes companhias farmacêuticas, incluindo *AstraZeneca*, *Bayer*, *Pfizer*, *SmithKline Beecham*, *Roche* e *Novartis*, com objetivo de mapear 300 mil dos mais comuns SNPs no genoma humano nos próximos anos (Destenaves e Thomas, 2000). Até o final de 2001, 1,4 milhões de SNPs estavam disponibilizados na base de dados pública do *SNP Consortium* (<http://www.snp.eslh.org>) que também tem patrocinado inúmeros estudos para caracterizar SNPs por genotipagem e determinação de frequência alélica nas populações (Thorisson e Stein, 2003).

O advento das ciências genômicas e o mapeamento do genoma humano estariam causando um profundo impacto no descobrimento de fármacos. As ciências genômicas combinadas com as ferramentas da bioinformática permitem dissecar as bases genéticas das doenças multifatoriais e têm mostrado pontos mais convenientes de ataque para medicamentos, aumentando o número de opções de alvos moleculares para o tratamento de doenças (Drews, 2000).

O número de alvos de fármacos conhecidos hoje é em torno de 450 e estima-se que existem mais de 10.000 no genoma humano. A diversidade de alvos abrange receptores acoplados a proteína G (60% dos fármacos no mercado atuam nesses receptores), canais iônicos, receptores nucleares de hormônios e enzimas, sendo que um terço dos fármacos que estão no mercado, excluindo antibióticos, são para desordens no sistema nervoso central e o outro terço para tratamento do câncer e doenças circulatórias (Norton, 2001).

O genoma humano contém de 26.588 transcritos para os quais existe uma grande probabilidade de serem codificantes de proteínas e mais 12.000 transcritos com uma baixa probabilidade de codificar proteínas (Venter et al., 2001) o que mostra que mesmo os dados obtidos pelo Projeto Genoma Humano são difíceis de estimar com ab-

solta certeza dada a complexidade da informação obtida pelo seqüenciamento e por um outro lado a dificuldade de definir com precisão o conceito de gene (Falk, 2000; Keller, 2000b). Então, se somente 1 a 2% destas proteínas pudessem ser usadas como alvos de fármacos, teríamos de 300 a 500 novos alvos terapêuticos, muitos dos quais ainda precisam ser descobertos (Drews, 2000).

De acordo com Stephen Friend (*Rosetta Inpharmatics Inc.*, Kirkland, WA, USA), de cada cinco fármacos no mercado, um foi desenvolvido para outra finalidade que não aquela para a qual está sendo usado, e muitas das informações coletadas durante o desenvolvimento do fármaco são descartadas por não serem relevantes para o papel pretendido para o fármaco em estudo (Berry, 2001). O hipolipemiante lovastatina e o sildenafil constituem exemplos de fármacos cuja principal aplicação terapêutica atual foi descoberta por acaso.

Potenciais contribuições da farmacogenética na indústria farmacêutica

As companhias farmacêuticas estão em déficit de inovação e procuram um novo caminho para aumentar sua produtividade, o número e a qualidade dos medicamentos. A comunidade financeira estima que a indústria farmacêutica cresça em torno de 13% anualmente, entretanto, é projetado sob modelos tradicionais um crescimento de menos de 8%. Estima-se ainda que companhias farmacêuticas precisariam de 3 a 5 novas substâncias aprovadas por ano para alcançar a taxa de crescimento de 10% (Norton, 2001). Segundo Craig Venter, presidente da *Celera Genomics*, as companhias farmacêuticas que não investirem em pesquisa genômica podem não estar mais no mercado daqui a vinte anos (Pirazzoli e Recchia, 2004). Consideramos relevante destacar nesta seção que existem abordagens críticas do discurso e das promessas da genômica que ajudarão ao leitor a entender quanto isto afeta também a indústria de medicamentos (Austin, 2003; Lazaridis e Petersen, 2005).

O problema é que é necessária a descoberta de mais de 60 novos alvos de fármacos para que 20 novos fármacos candidatos sejam indicados para os testes clínicos e a partir daí, produzir 3 novos fármacos que possam ser aprovados para registro (Cockett et al., 2000).

Para aumentar esta taxa de crescimento, a indústria farmacêutica precisa reduzir o tempo e o custo do desenvolvimento de fármacos, que atualmente requer em torno de 10 a 12 anos e até um bilhão de dólares por composto. A farmacogenética está se tornando a primeira tecnologia de descobrimento de fármacos a afetar a estrutura e a economia da indústria farmacêutica (Roses, 2004).

O conceito de gene e suas implicações econômicas na indústria farmacêutica

Neste contexto de franca expansão da indústria farmacêutica ligada ao conceito de gene molecular, se configura como um período problemático para a farmacogenética, já que nas últimas cinco décadas o conceito de gene tem sido revisado continuamente e várias evidências científicas têm contribuído para o desmoronamento ou crise do gene molecular, afetando os objetivos traçados pela farmacogenética e farmacogenômica e constituindo uma alerta para os investimentos de recursos com objetivos terapêuticos baseados em polimorfismos genéticos.

O problema de o gene perder seu poder de ação: os genes reguladores

A introdução de dois tipos diferentes de genes, os “estruturais” e os “reguladores”, por François Jacob e Jacques Monod foi a primeira desestabilização da forte noção do poder de ação dos genes. Nesse contexto criado em 1959 e reafirmado em 1961, o gene não age simplesmente e está implícito que, para iniciar sua expressão precisa ser ativado ou inativado previamente (Jacob e Monod, 1961). A solução deste problema, dentro da lógica da genética que considera os genes responsáveis pela sua ação, foi atribuir este poder de ação aos chamados “genes reguladores” elementos que se constituíram como peças chaves do modelo de *operon* e da metáfora do controle genético propostos por Jacob e Monod. Porém, os genes reguladores são proteínas ou fatores transcricionais que se unem a umas seqüências simples chamadas de regulatórias. Como então esses fatores e seqüências poderiam agir com independência? E de que forma essas proteínas regulatórias sustentariam a idéia

de que o material genético possui um programa intrínseco recorrente nas idéias básicas da genética moderna? No nosso ponto de vista é completamente insatisfatório procurar no modelo e na noção de gene regulador proposto por Jacob e Monod alguma relação causal de como os genes agem, principalmente pela omissão da atribuição das propriedades regulatórias às próprias proteínas que possuem essas propriedades e sim aos genes que por codificar a estrutura primária parecem ter propriedades além das possíveis na seqüência linear do gene. Além disso, a metáfora do controle genético proposta por Jaques Monod ficou seriamente afetada com evidências provenientes das funções dos genes homeóticos (Lewis, 1978) ou *master genes* que, sendo genes reguladores, mostraram ser surpreendentemente os mais regulados espacial e temporalmente no desenvolvimento embrionário (Carroll, 1995; Duncan 1996). Se os genes reguladores são também regulados continua ainda vigente o problema do controle genético e surge paradoxalmente dentro da Biologia do desenvolvimento uma nova metáfora “a regulação dos reguladores gênicos dos genes” deixando sempre em aberto a questão de como e quem inicia a cascata de regulação gênica.

A nova idéia de genes reguladores e estruturais cria também uma forte confusão em relação ao número de genes de um determinado organismo e se a quantificação do número de genes em particular está ou não considerando os genes reguladores na somatória total. Também é confuso determinar o local físico do gene, porque os genes reguladores ou seqüências reguladoras estão espalhados em vários locais diferentes dos cromossomos e distantes da seqüência codificante de uma proteína e, em muitos casos, as seqüências reguladoras estão inseridas dentro do chamado gene estrutural, complicando ainda mais a definição e separação destas duas classes de genes (Keller, 2000b).

O problema de o gene perder seu poder de ação: os campos morfogenéticos e os organizadores

O problema da ação dos genes e sua idéia programática de resolver o desenvolvimento embrionário (Keller, 2000a) foram também corroídos por evidências fortes da embriologia experimental que mostraram que

determinados territórios embrionários possuem independência de um programa genético, estabelecendo uma idéia conceitual profunda da embriologia moderna chamada de “campos morfogenéticos”. Estes campos são sistemas biológicos de ordem nas quais as células (consideradas de entidades instáveis) dentro do campo interagem e ajudam a definir suas posições dentro do sistema. As propriedades dos campos morfogenéticos e seus efeitos dentro do embrião em desenvolvimento dependem das várias posições de equilíbrio desse sistema que é heteropolar e heteroaxial. Os campos de forma simplificada são considerados como sistemas equipotenciais de autodiferenciação onde as células dentro do campo estão comprometidas para originar um órgão particular, porém, as células individuais ao interior do campo não estão determinadas a um tipo particular de diferenciação (Goodwin e Webster, 1996). Considera-se que todos os órgãos dentro do embrião possuem seu próprio campo morfogenético durante o desenvolvimento e os destinos embrionários do campo estão traçados em um contexto que depende fundamentalmente das propriedades emergentes das células que configuram o campo e onde são importantes as propriedades dinâmicas internas das células e as propriedades específicas, por exemplo, de proteínas morfógenos produzidas dentro do campo (Gilbert et al., 1996).

Para exemplificar o poder destas áreas de informação embriológica e o porquê foram propostos como os princípios organizadores de toda a embriologia, consideramos apropriado mencionar os trabalhos de Harrison (citados em Gilbert et al., 1996) com os campos morfogenéticos dos membros anteriores de salamandra que quando transplantados em regiões ectópicas do embrião formaram membros normais. A capacidade de regulação destes campos de membros foi demonstrada cortando os campos em duas metades e quando transplantadas em lugares ectópicos ambas produziram um membro completo e normal. Duas metades de campos diferentes e na mesma orientação produziram um membro normal e quando algumas células ou tecidos (células não determinadas) foram introduzidas no interior do campo elas eram incorporadas e organizadas dentro do membro em formação (Goodwin e Webster, 1996; Gilbert et al., 1996) Portanto, se as duas metades de qualquer campo morfogenético possuem a capacidade de organizar um membro completo, então cada metade está herdando a

informação para organizar o órgão completo e portanto o campo morfogenético seria uma unidade de ontogenia que desafiaria o gene nessa função de transmissão de informação de uma geração para outra. O eclipse do conceito biológico de campo morfogenético teve diferentes razões abordadas elegantemente por Gilbert e colaboradores em 1996. Logo, o desenvolvimento embrionário depende mais de propriedades dinâmicas das proteínas, das células, dos conjuntos celulares ou campos morfogenéticos e suas propriedades emergentes que das mudanças de expressão gênica ou do papel de genes específicos (De Robertis et al., 1991; Gilbert et al., 1996).

Todas as noções de campo morfogenético dependem de um tipo de gene que não procura representação na descendência e cuja ação é estritamente focalizada na ontogenia do indivíduo. As propriedades desse gene dependem do contexto celular dentro do embrião, de interações entre as células, das propriedades difusíveis das proteínas que ele mesmo codifica e também de estruturas teciduais embrionárias o que representa enfim o gene dentro de um processo dinâmico cujas diretrizes estão mais perto da epigênese que de um programa genético.

O problema de o gene não controlar o fenótipo

Os avanços no conhecimento de morfogênese e de diferenciação celular deram o último embate sobre o papel dos genes, desarticulando a idéia bem arraigada que o gene controla diretamente o fenótipo. Com relação a este ponto, o fenótipo de um organismo durante a ontogenia sofre importantes mudanças de forma e, em paralelo, o fenótipo celular se estabelece por caminhos de diferenciação celular na qual cada célula sofre importantes alterações morfológicas durante o desenvolvimento embrionário. Estas células, morfológicamente diferenciadas, utilizam as mesmas proteínas do citoesqueleto e proteínas associadas, sugerindo que a informação dessas diferenças não está codificada nos genes e sim, em propriedades de organização celular. Um exemplo interessante para ilustrar esta idéia é que alguns tecidos podem sofrer transdiferenciação e mudar seu fenótipo em resposta aos sinais ambientais, fatores de crescimento ou hormônios do meio extracelular (Henry, 2003; Burke e Tosh, 2005). Assim, é inevitável pensar que se os genes não agem e não possuem o controle do fenótipo, a farmacogenética

começa também a entrar em crise.

O problema de definir o gene: o surgimento de novos paradigmas

Um elemento mais complicador ainda, pela nossa forma de pensamento científico, foram as mudanças dramáticas com relação à definição do gene molecular. Inicialmente o gene molecular foi definido como uma sequência de ADN que codifica uma enzima, definição que teve forte influência das noções experimentais em fungos de Beadle e Tatum (1941). Como mutações específicas nas vias metabólicas determinaram falhas no processo metabólico eles afirmaram que os genes estariam controlando reações metabólicas e bioquímicas. É importante ressaltar que a força final da hipótese um gene uma enzima foi a descoberta da base molecular do material genético que terminou sendo identificada como ADN. Depois a hipótese um gene uma enzima ganhou um sentido diferente porque ficaria estabelecido que não todos os genes codificam enzimas e então ganhou força a noção de uma sequência de ADN que codifica uma sequência de aminoácidos de uma proteína. Como várias proteínas da célula são construídas pela união de várias cadeias polipeptídicas diferentes, codificadas por genes diferentes e até em cromossomos diferentes, a definição adotou a idéia de que uma sequência de ADN codifica uma cadeia polipeptídica, complementada logo depois com a descoberta de que alguns genes importantes codificam o ARN ribossomal, ARN de transferência e ARNs de pequeno tamanho. Logo, não demorou em aparecer evidências de que os genes possuem *introns* e *exons* (Gilbert, 1978) e que, portanto as fitas de ARN devem ser processadas pós-transcricionalmente, o que não alterou significativamente a definição de gene. Porém, o surgimento de dados experimentais que demonstraram o processo de *splicing alternativo* ou emenda alternativa (Grabowski et al., 1985) modificou a noção do gene e levou ao entendimento de que um gene poderia produzir múltiplas proteínas diferentes a partir de uma mesma sequência. Neste novo contexto, a definição ficou resumida na expressão conhecida de “um gene, várias proteínas” que representava a noção de uma sequência de ADN que possui *exons* como segmentos independentes e que estes *exons* dependendo do contexto celular poderiam fazer proteínas diferentes (Rheinberger, 2000).

Esta definição continuaria mudando, e de forma significativa, quando se descobriu que alguns *introns* normalmente considerados como lixo molecular, em determinados contextos celulares poderiam fazer parte das proteínas (Hirata et al., 2003). Desta forma a definição que atendeu estas mudanças conceituais ficaria como uma seqüência de ADN com *introns* e *exons* e que, dependendo do contexto celular, ambos podem formar parte de cadeias polipeptídicas diferentes (Keller, 2000b). Este processo de grandes mudanças culminou com as evidências experimentais do processo celular de edição (*editing*) na qual os ARNm produzidos pelas células podem sofrer adição de bases uracilas em locais específicos, chegando ao ponto difícil de aceitar de que algumas proteínas não possuem informação codificada nos genes (Stuart et al., 2005; Turelli e Trono, 2005). Neste ponto a seqüência dramática de mudanças alcançou seu grau máximo a nosso entender de frontando finalmente com o paradigma do conceito de gene.

As propriedades dinâmicas das proteínas são independentes do gene

Apesar do poder de sedução do conceito de gene, uma parte importante da atenção começa a centrar-se nas proteínas, quando se descobriu que a sua função podia ser regulada na célula por meio de um mecanismo chamado alostérico (Monod et al., 1963). Desta forma, a função de uma proteína não fica reduzida ou determinada pela expressão de um gene e se configura como um ponto de partida para entender que as propriedades das proteínas podem ser independentes do material genético, que muitas funções são dependentes de modificações pós-traducionais e de interações com muitas outras proteínas no citoplasma celular, construindo complexos protéicos cujas propriedades dinâmicas, bioquímicas e celulares começam a romper suas conexões com um determinismo genético e se cria um paradigma que corroe as idéias da farmacogenética e farmacogenômica dependentes da noção arraigada no dogma central da biologia.

Um aspecto ainda mais forte de ruptura com o determinismo genético surge quando várias evidências experimentais sustentam que uma proteína pode ter diferentes funções dependendo do contexto celular. Os melhores exemplos estão nas conexinas e cateninas. As conexinas

podem ser canais de comunicação intercelular ou ser proteínas que desencadeiam processos de proliferação ou apoptose, dependendo do contexto (Goodenough e Paul, 2003). A proteína beta-catenina, como um outro exemplo, pode ser um fator transcripcional com função nuclear ou um elemento estrutural do citoesqueleto de actina no citoplasma celular (Bienz, 2005). Ainda mais, várias proteínas diferentes podem ter a mesma função, dependendo do contexto celular ou embrionário, criando o paradigma da redundância funcional (Gilbert et al., 1996).

Imaginemos, portanto, o fato de procurar alvos farmacológicos por meio de polimorfismos genéticos em um primeiro contexto em que um gene pode produzir muitas proteínas e estas proteínas podem ter múltiplas funções dependendo do contexto celular ou ainda, em um segundo contexto em que diferentes proteínas possam ter a mesma função. No primeiro caso a pergunta inicial surge da exigência de saber qual das proteínas é nosso alvo farmacológico; a segunda pergunta surge da necessidade de saber qual função realizada por essa proteína escolhida é de nosso interesse como alvo terapêutico. Portanto se não conhecemos nada do contexto celular em que essa proteína trabalha, suas inter-relações com outras proteínas, suas modificações pós-traducionais em um contexto sadio ou doente do organismo, dificilmente poderemos deduzir alguma coisa sobre a farmacologia de um fármaco baseado somente na estrutura do ADN. Por outro lado, o alelo genético escolhido como alvo farmacológico pode codificar também várias outras proteínas e estas serem produzidas ou não no mesmo tempo, podendo afetar os processos celulares e bioquímicos alvos no contexto da doença. No segundo caso, podemos perceber ainda melhor que, ao escolher um polimorfismo de interesse como alvo farmacológico sem entender seu contexto de inter-relações, poderemos desvalorizar sua importância pelo fato de nosso processo alvo estar mascarado pela função de outras proteínas diferentes que realizam a mesma função.

Finalmente, mesmo depois de longos anos a palavra gene continua seduzindo, simplificando e reduzindo a complexidade dos processos biológicos e este manuscrito é somente uma pequena alerta da impossibilidade de reduzir toda a complexidade biológica a um segmento de ADN e que, no atual estado de conhecimento e de

avanço tecnológico após a clonagem de genoma humano, somente nos resta ter a humildade de reconhecer que ainda nos falta muito a aprender sobre a organização celular, tecidual e embrionária e que os financiamentos da indústria farmacêutica nos polimorfismos genéticos devem prever uma grande incerteza nos resultados experimentais pelo estado superficial de nosso conhecimento científico nesta área.

Referências

- Arranz, M. J.; Kerwin, R. W. 2003. Advances in the pharmacogenetic prediction of antipsychotic response. **Toxicology**, **192** (1): 33-35.
- Austin, C. P. 2003. The completed human genome: implications for chemical biology. **Current Opinion in Chemical Biology**, **7** (4): 511-515.
- Azevêdo, E. S. 2004. Farmacogenômica: aspectos éticos. **Gazeta Médica da Bahia**, **74** (2): 145-148.
- Beadle, G. W.; Tatum, E. L. 1941. Genetic control of Biochemical reactions in *Neurospora*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, **21**: 499-506.
- Berry, S. 2001. Drug discovery in the wake of genomics. **Trends in Biotechnology**, **19** (7): 239-240.
- Bienz, M. 2005. beta-Catenin: a pivot between cell adhesion and Wnt signalling. **Current Biology**, **15** (2): R64-67.
- Botelho, J. F. 2003. **Evolução desenvolvimental e autopoiese: análise comparativa dos discursos**. Trabalho Conclusão de Curso, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, 87 pp.
- Burke, Z. D.; Tosh, D. 2005. Therapeutic potential of transdifferentiated cells. **Clinical science (London)**, **108** (4): 309-321.
- Carroll, S. B. 1995. Homeotic genes and the evolution of arthropods and chordates. **Nature**, **376**: 479-485.
- Chamberlain, J. C.; Joubert, P. H. 2001. Opportunities and strategies for introducing pharmacogenetics into early drug development. **Drug Discovery Today**, **6** (11): 569-574.
- Cockett, M.; Dracopoli, N.; Sigal, E. 2000. Applied genomics: integration of the technology within pharmaceutical research and development. **Current Opinion in Biotechnology**, **11** (6): 602-609.
- Collins, F. S.; Morgan, M.; Patrinos, A. 2003. The Human Genome Project: Lessons from Large-Scale Biology. **Science**, **300** (5617): 286-290.
- Crick, F. 1957. On the protein synthesis. **Symposia of the Society for Experimental Biology**, **12**: 138-163.
- De Robertis, E. M.; Morita, E. A.; Cho, K. W. 1991. Gradient fields and Homeobox genes. **Development**, **112**: 669-678.
- Destenaves, B.; Thomas, F. 2000. New advances in pharmacogenomics. **Current Opinion in Chemical Biology**, **4** (4): 440-444.
- Drews, J. 2000. Drug Discovery: A historical perspective. **Science**, **287** (5460): 1960-1964.
- Duncan, I. 1996. How do single homeotic genes control multiple segment identities? **Bioessays**, **18** (2): 91-94.
- Falk, R. 2000. The gene-a concept in tension *In*: Beurton, P.; Falkan, R. & Rheinberger, H-J. (Ed.). **The concept of the gene in development and evolution: historical and epistemological perspectives**. Ed, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom, p. 317-348.
- Gilbert, W. 1978. Why genes in pieces? **Nature**, **271**: 501.
- Gilbert, S. F.; Opitz, J. M.; Raff, R. A. 1996. Resynthesizing evolutionary and developmental biology. **Developmental Biology**, **173** (2): 357-72.
- Ginsburg, G. S.; McCarthy, J. J. 2001. Personalized medicine: revolutionizing drug discovery and patient care. **Trends in Biotechnology**, **19** (12): 491-496.
- Goodenough, D. A.; Paul, D. L. 2003. Beyond the gap: functions of unpaired connexon channels. **Nature Review Molecular Cell Biology**, **4** (4): 285-294.
- Goodwin, B.; Webster, G. 1996. **Form and transformation**. Ed, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom, 287 pp.
- Grabowski, P. J.; Seiler, S. R.; Sharp, P. A. 1985. A multicomponent complex is involved in the splicing of messenger RNA precursors. **Cell**, **42**: 345-353.
- Henry, J. J. 2003. The cellular and molecular bases of vertebrate lens regeneration. **International review of cytology**, **228**: 195-265.
- Hirata, S.; Shoda, T.; Kato, J.; Hoshi, K. 2003. Isoform/variant mRNAs for sex steroid hormone receptors in humans. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, **14** (3): 124-129.
- Hughes, J. E. 1999. Genomic technologies in drug discovery and development. **Drug discovery today**, **4** (1): 6.
- Jacob, F.; Monod, J. 1961. Genetic Regulatory Mechanisms in the synthesis of protein, **Journal Molecular Biology**, **3**: 318-356.
- Johnson, J. A.; Evans W. E. 2002. Molecular diagnostics as a predictive tool: genetics of drug efficacy and toxicity. **Trends in molecular medicine**, **8** (6): 300-305.
- Keller E. F. 2000a. Decoding the genetic program: or, some circular logic in the logic of circularity *In*: Beurton, P.; Falkan, R. & Rheinberger, H-J. (Ed.). **The concept of the gene in development and evolution: historical and epistemological perspectives**. Ed, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom, p. 159-177.
- Keller, E. F. 2000b. **The century of the gene**. Ed, Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, USA. 192 pp.
- Lazaridis, K. N.; Petersen, G. M. 2005. Genomics, genetic epidemiology, and genomic medicine. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, **3** (4): 320-328
- Lewis, E. B. 1978. A gene complex controlling segmentation in *Drosophila*. **Nature**, **276**: 565-570.
- Lima, I. V. M.; Sougey, E. B.; Vallada Filho, H. P. 2004. Farmacogenética do tratamento da depressão: busca de marcadores moleculares de boa resposta aos antidepressivos. **Revista de Psiquiatria Clínica**, **31** (1): 40-43
- Mancinelli, L.; Cronin, M.; Sadée, W. 2000. Pharmacogenomics: The Promise of Personalized Medicine. **AAPS pharmSci [electronic resource]**, **2** (1): E4.

- Monod, J.; Changeux, J. P.; Jacob, F. 1963. Allosteric proteins and the cellular control systems. **Journal Molecular Biology**, **6**: 306-329.
- Morange, M. 2000. The developmental gene concept: history and limits *In*: Beurton, P.; Falkan, R. & Rheinberger, H-J. (Ed.). **The concept of the gene in development and evolution: historical and epistemological perspectives**. Ed, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom, p. 193-215.
- Nebert, D. W.; Vesell, E. S. 2004. Advances in pharmacogenomics and individualized drug therapy: exciting challenges that lie ahead. **European Journal of Pharmacology**, **500** (1-3): 267-280.
- Norton, R. M. 2001. Clinical Pharmacogenomics: applications in pharmaceutical R & D. **Drug discovery today**, **6** (4): 180-185.
- Pirazzoli, A.; Recchia, G. 2004. Pharmacogenetics and pharmacogenomics: are they still promising? **Pharmacological Research**, **49**: 357-361.
- Rheinberger, H.-J. 2000. Gene concepts: fragments from the perspective of molecular biology *In*: Beurton, P.; Falkan, R. & Rheinberger, H-J. (Ed.). **The concept of the gene in development and evolution: historical and epistemological perspectives**. Ed, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom, p. 219-239.
- Roses, A. D. 2004. Pharmacogenetics and drug development: the path to safer and more effective drugs. **Nature Review Genetics**, **5** (9): 645-56.
- Stereny, K.; Griffiths, P. E. 1999. **Sex and death**: an introduction to the philosophy of biology. Chicago University Press, Chicago, USA, 440 pp.
- Stuart, K. D.; Schnauffer, A.; Ernst, N. L.; Panigrahi, A. K. 2005. Complex management: RNA editing in trypanosomes. **Trends in biochemical sciences**, **30** (2): 97-105.
- Thorisson, G. A.; Stein, L. D. 2003. The SNP Consortium website: past, present and future. **Nucleic Acids Research**, **31** (1): 124-127.
- Trotta, R.; Donati, M. B.; Iacoviello, L. 2004. Trends in pharmacogenomics of drug acting on hypertension. **Pharmacological research**, **49** (4): 351-356.
- Turelli, P.; Trono, D. 2005. Editing at the crossroad of innate and adaptive immunity. **Science**. **307** (5712): 1061-1065.
- Venter, J. C. et al. 2001. The sequence of the human genome. **Science**, **291**: 1304-1351.
- Walker, M. R.; Rapley, R. 1999. **Guia de rotas na tecnologia do gene**. Atheneu, São Paulo, Brasil, 334 pp.
- Yagil, Y.; Yagil, C. 2002. Insights into pharmacogenomics and its impact upon immunosuppressive therapy. **Transplant immunology**, **9** (2-4): 203-209.