

## A UTILIZAÇÃO DA TERAPIA GÊNICA NA CORREÇÃO DE GENES MUTADOS

### THE USE OF GENE THERAPY IN THE CORRECTION OF MOVED GENES

Nycollas Fernandes Peres Costa

Joice do Livramento Affonso<sup>1</sup>

Janice Maria Ribeiro Dias<sup>2</sup>

#### RESUMO

A terapia gênica consiste em uma técnica de DNA recombinante aonde se injeta genes saudáveis, carregados por um vetor, em uma célula alvo. Esses vetores são responsáveis por carregarem os genes terapêuticos dentro deles, portanto são transportadores. Os vetores podem ser virais ou não virais, possuindo uma enorme diferença entre eles, assim como sua utilização. Encontrar o vetor ideal é um dos desafios a serem superados pela terapia gênica. De modo geral a técnica demonstra-se promissora, uma vez que é capaz de promover a cura de uma diversidade de doenças, sendo elas genéticas ou não. Isso ocorre porque os genes estão relacionados a todos os tipos de doenças humanas. Contudo, a terapia gênica não está limitada apenas para sua utilização em doenças, seu uso é mais abrangente, podendo ser utilizada em lesões de lenta recuperação e até mesmo em melhoramento genético. Apesar de sua vasta utilização, a terapia gênica encontra-se ainda em caráter experimental, apresentando diversas barreiras e limitações, demonstrando possuir um grande potencial para as diversas áreas da saúde.

**Palavras-Chaves:** Terapia gênica. Engenharia genética. Transferência gênica.

#### ABSTRACT

Genic therapy consists in a DNA recombinant technique, where healthy genes are injected, carried out by a vector, into a target cell. These vectors are responsible for carrying therapeutic genes inside themselves therefore they are the carriers. The vectors may be viral or not, having a large difference between them, likewise their usage. Finding the ideal vector is one of the challenges to be solved by genic therapy.

---

<sup>1</sup> Graduandos em Biomedicina pela Faculdade Multivix Cachoeiro de Itapemirim

<sup>2</sup> Doutora em Genética e Melhoramento, Mestre em Produção Vegetal e Graduação em Ciências Biológicas. Docente na Faculdade do Espírito Santo - Multivix - Cachoeiro de Itapemirim;

Generally, the technique shows to be promising, once it is capable of promoting the healing of a variety of illness, where it may be genetic or not. This occurs by the fact of the genes are related to all the types of human illnesses. However, genic therapy is not limited only to its usage in illnesses, once its usage is more abrasive, and it may be used in slow recover injuries and even in genetic development. Although his wide usage, genic therapy finds itself still in an experimental step, presenting lots of barriers and limitations, however, it still demonstrates to have a big potential do several areas of health.

**Keywords:** Gene therapy. Genetic engineering. Gene transfer.

## 1 INTRODUÇÃO

A terapia gênica é um método que se baseia na inserção de genes terapêuticos, utilizando para isso a tecnologia do DNA recombinante, tendo como principal intuito promover a cura de doenças genéticas ou não. A terapia gênica, portanto, apresenta-se com uma ampla aplicação, podendo ser utilizada em uma diversidade de doenças. Seu amplo emprego é devido à utilização de genes sadios, para suprir os genes defeituosos ou até mesmo potencializar os genes presentes (LINDEN, 2010).

A terapia gênica apesar de ter como intuito e foco de sua aplicação a cura de doenças, também poderia ser utilizada nos esportes físicos, como melhoramento genético, ou até mesmo sendo aplicada em atletas lesionados, proporcionando desta maneira uma melhora significativamente rápida (ARTIOLI; HIRATA; LANCHÁ JUNIOR, 2007).

Diante das inúmeras possibilidades, a terapia gênica demonstra-se com uma enorme capacidade de uso, especialmente na possibilidade de proporcionar a cura para uma infinidade de doenças. Cabe ressaltar que mesmo sendo inúmeras as possibilidades de sua aplicação, ainda se trata de uma terapia de caráter experimental, possuindo ainda sim um enorme potencial. Diante desse contexto, este trabalho teve como objetivo abordar a utilização da terapia gênica na correção de genes mutados, buscando apresentar o funcionamento, perspectivas, avanços e problemas enfrentados pela técnica.

## 2 TERAPIA GÊNICA

### 2.1 Histórico

Em 1928, Frederick Griffith um bacteriologista britânico publicou um relatório que abordava a modificação de um tipo pneumocócico não virulento, em um tipo virulento. Ele infectou camundongos com a mistura de bactérias vivas, da forma R não virulenta do pneumococo do tipo I, com bactérias, inativadas pelo calor, da forma S virulenta do pneumococo do tipo II. O resultado foi à morte dos camundongos por pneumonia (WIRTH; PARKER; HERTTUALA, 2013).

No ano de 1931, Dawson e Lia aperfeiçoou as descobertas de Griffith além de desenvolverem uma forma de transformação *in vitro*. Em 1941, Avery e McCarty dedicaram-se a depurar o elemento revolucionário como forma de diferenciar a substância que levou a modificação ocasionada pelo DNA. Em 1944, período em que grande maioria dos geneticistas, principalmente Avery, apoiava que os genes poderiam ser formados por proteínas. Por conta disso, o DNA tornou-se alvo de intensas pesquisas (VERMA; WEITZMAN, 2005).

Em 1958, Joshua Lederberg expôs que bactérias poderiam transportar material genético durante o acasalamento. Com o auxílio de Norton Zinder apresentou um terceiro mecanismo que consistia na transferência genética em bactérias, recebendo o nome de transdução (WIRTH; PARKER; HERTTUALA, 2013).

Baseado em procedimentos genéticos com procariontes na década de 1940, levando em consideração seu experimento com transformações em *Bacillus subtilis*, juntamente com a esposa Elizabeth Szybalska, o Dr. Waclaw Szybalski isolou mutantes definidos e que possuíam facilidade no processo de seleção de células humanas para projetar experimentos com intuito de abordar mutações, mutagenicidade, recombinações gênicas e as transformações possíveis pelo DNA. Tinha como principal objetivo averiguar a possibilidade de aplicação da terapia gênica mediada por DNA, para células humanas e animais, por meio de desenvolvimento de procariontes (SZYBALSKI, 2013).

Em 1962, o Dr. Waclaw Szybalski junto com a Dra. Elizabeth Szybalski propuseram um experimento em que todas as células que não possuíam atividade da Hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase e que não conseguiam crescer em meio de cultura específico, foram acrescentados ao DNA isolado das contrapartes normais. O sucesso foi alcançado, de forma que um número reduzido dessas células tratadas conseguiu crescer no meio de cultivo utilizado (DULAK; UCHTO; JOZKWICZ, 2013).

O professor Szybalski também elaborou um tratamento para doenças genéticas humanas por meio da terapia gênica. Wadaw Szybalski junto com Rose Litman, em 1963, proporcionaram a primeira biologia de campo capaz de projetar e construir vida sintética. Entre suas contribuições destacam-se inovações no designer de enzimas de restrição, liberação dos genes amplificados de cópia única, entre outras técnicas que contribuem para o estudo do genoma humano (VERMA; WEITZMAN, 2005).

Através do gene HPRT que por sua vez codifica a enzima hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase foi possível desenvolver um método que torna possível a seleção de mutantes diretos e reversos. Atualmente, a terapia gênica torna possível a substituição das funções gênicas dos genes R, tendo um papel importante nos experimentos de laboratórios com diversos organismos e tecidos (SZYBALSKI, 2013). Em dezembro de 1988, o Comitê Consultivo de DNA Recombinante (RAC) aprovou o primeiro protocolo clínico que possuía como intuito introduzir um determinado gene estranho em humanos (IBRAHEEM; ELAISSARI; FESSI, 2013).

No ano de 1990, o primeiro a empenhar-se na utilização da terapia gênica com o auxílio do DNA recombinante foi Martin Cline. Antes desse fato, o mesmo foi capaz de forma experimental, de introduzir genes estranhos em células troncos da medula óssea de camundongos, demonstrando que quando essas células são modificadas podem ocupar parcialmente a medula óssea de outros camundongos (VERMA; WEITZMAN, 2005).

Pela primeira vez, em 14 de setembro de 1990, a *FDA (Food and Drug Administration - Administração de Alimentos e Remédios)* permitiu que fosse realizado o primeiro teste de terapia gênica como forma terapêutica em humanos. Os testes foram feitos em duas crianças que por sua vez eram acometidos por uma deficiência de adenosina

desaminase. Trata-se de uma patologia monogenética que causa imunodeficiência grave. O tratamento foi à base de leucócitos removidos do sangue desses pacientes e alterados in vivo para determinar o gene normal na produção de adenosina desaminase (IBRAHEEM; ELAISSARI; FESSI, 2013).

No ano de 1999, um dos piores cenários para a terapia gênica ocorreu quando Jesse Gelsinger de 18 anos, que apresentava deficiência parcial de ornitina transcarbamilase (enzima presente no fígado responsável pela retirada elevada de nitrogênio de aminoácidos e proteínas), se candidatou a um procedimento clínico de terapia gênica na Universidade da Pensilvânia, localizada na Filadélfia. Ele acabou morrendo quatro dias após seu sistema imunológico reagir de forma rápida a uma dose muito alta administrada de adenovírus. O motivo de sua morte foi falência múltipla dos órgãos (WIRTH; PARKER; HERTTUALA, 2013).

Já em meados de 2003, a China se destacou como o primeiro país a admitir que um medicamento fundamentado em terapia gênica tivesse uso clínico. O Gendicine™ aprimorado pela SiBiono Gene Tech Co consiste em um vetor adenoviral, onde o gene E1 é alterado por um CDNA de p53 humano. Trata-se então de um vírus que não realiza replicação e foi autorizado no tratamento de carcinomas de células escamosas do pescoço e da cabeça (VERMA; WEITZMAN, 2005).

## **2.2 Possibilidades, Avanços e Estratégias da Técnica**

A terapia gênica consiste basicamente em introduzir em uma determinada célula-alvo um fragmento de material genético que terá como resultado uma cura ou a desaceleração da progressão de uma determinada doença. Contudo, para alcançar este objetivo, é necessária uma tecnologia que torne capaz a transferência dos genes para uma vasta gama de tecidos, células e órgãos, tendo como principal obstáculo, o desenvolvimento de vetores que são capazes de atender todos os requisitos necessários para a produção em massa e transporte do material genético com segurança (LINDEN, 2010).

Este processo de entrega e de expressão gênica recebe o nome de transdução. Para que a entrega e a expressão gênica ocorram de forma bem-sucedida, é necessário

que os obstáculos enfrentados pelos vetores sejam superados. Um vetor ideal deverá ser capaz de segmentar os tipos de células mais apropriadas para a doença, seja dividindo ou não as células (GRIFFITHS et al, 2002).

Portanto, os estudos realizados sobre absorção, tráfico intracelular e regulação gênica facilitaram de maneira geral o desenvolvimento de vetores mais eficientes para a entrega do material genético. Para que se alcance o resultado desejado, o DNA do vetor deve se integrar ao DNA do hospedeiro (AMER, 2014).

Para tanto, deve-se considerar os riscos de mutagênese insercional, e por isso torna-se necessária a regulação do gene terapêutico, assim como a verificação de que não haja nenhum gene patogênico ou adverso. Os vetores que foram criados para superar tais obstáculos são separados em duas categorias, sendo os vetores não virais e virais (LINDEN, 2010).

Os vetores não virais basicamente são de DNA, que podem ser entregues através de injeções, lipossomas ou até mesmo nano partículas. Embora esses vetores possam ser produzidos em grandes quantidades, estão sujeitos a apresentar maiores problemas imunológicos, sofrendo assim com transferências ineficientes dos genes. Além dos problemas para transferência do gene, os genes transferidos tendem a ser transitórios impedindo, deste modo, a aplicação em casos aonde se torna necessária a expressão sustentada de um gene de interesse para atuar nos doentes (LIU, KIRN; 2008).

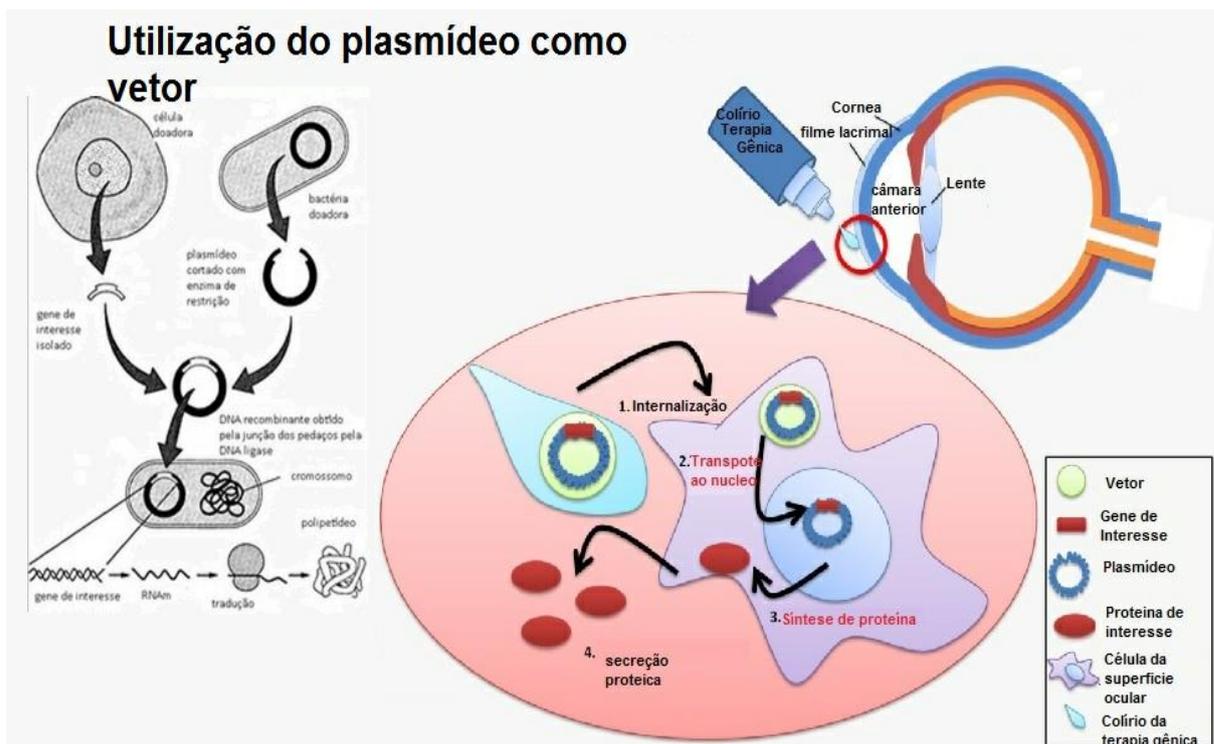
Futuramente, é provável que os protocolos para a utilização da terapia gênica recebam novas inovações, a fim de melhorar a transferência de genes através dos vetores não virais, baseando-se de certa forma nos vetores virais. Já os vetores virais, como o próprio nome sugere, são derivados de vírus que apresentam genomas tanto de RNA ou DNA, sendo representados como vetores não integrantes e integrantes (LINDEN, 2010).

Existem três classes de vetores que ganharam destaque, e que atualmente estão em desenvolvimento, que são os plasmídeos, vetores virais e vetores nano estruturados. Os plasmídeos são basicamente seqüência circulares de DNA, que são relativamente

simples, no entanto, são extremamente eficazes para a expressão de gene, sendo deste modo possível a inserção de um gene terapêutico (VERMA; WEITZMAN, 2005).

Essa inserção do gene deverá ser realizada através da técnica de DNA recombinante. Para que os plasmídeos sejam introduzidos (figura 1), é necessário que a resistência celular seja vencida e para que isso ocorra, torna-se necessário que a membrana celular seja fragilizada. Isso pode ocorrer por diversos métodos, como por exemplo, a utilização de choques elétricos (eletroporação) ou até mesmo de substâncias que vão atuar quimicamente na membrana celular, enfraquecendo-a (LINDEN, 2010).

Figura 1 - Gene de interesse isolado e inserido em um plasmídeo, através da técnica de DNA recombinante. Uma vez inserido, a bactéria passa a sintetizar a proteína de interesse, denominada proteína recombinante (INÊS, 2014).

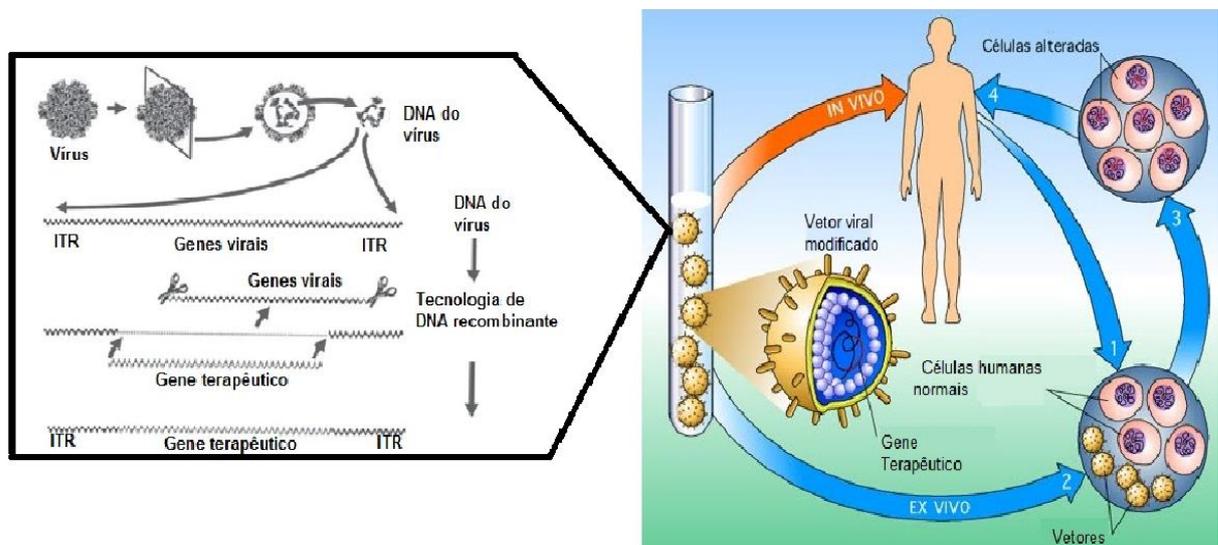


Fonte: adaptado de INÊS, 2014.

Outro tipo de abordagem para a implantação dos plasmídeos dentro da célula é a aplicação de uma grande quantidade do mesmo, ao redor dela. Isso faz com que mesmo pequenas quantidades sejam capazes de vencer essa barreira celular, uma vez que a eficiência deste modo é muito baixa. Mesmo que uma pequena fração consiga cruzar a membrana celular, ela será capaz de produzir os efeitos desejados (LIU, KIRN; 2008).

Ressalta-se que estas técnicas são extremamente limitadas, sendo, por exemplo, improvável a aplicação da mesma em órgão de difícil acesso. Deste modo os vetores plasmidiais são limitados a apenas algumas determinadas circunstâncias. A aplicação intramuscular através de injeção, que é o caso das vacinas no músculo cardíaco, é de DNA, podendo ainda ser utilizada para estudos em animais. Já os vetores virais, não apresentam a mesma dificuldade que os plasmidiais, pois esses microorganismos são especializados em invadir as células (figura 2), e introduzir seu material genético nela (LINDEN, 2010).

Figura 2 - O esquema de construção do vetor demonstra que o DNA viral contém vários genes que são responsáveis pelo seu ciclo de vida, no entanto para sua utilização como vetor, apenas o DNA marcado em regiões terminas com a sigla ITR, já são o suficiente. A realização do processo baseia-se em substituir os genes virais patogênicos por genes terapêuticos, usando desta forma a técnica do DNA recombinante, após a realização deste processo o vírus é encapsulado e aplicado no paciente (LINDEN, 2010).



Fonte: adaptado de LINDEN, 2010.

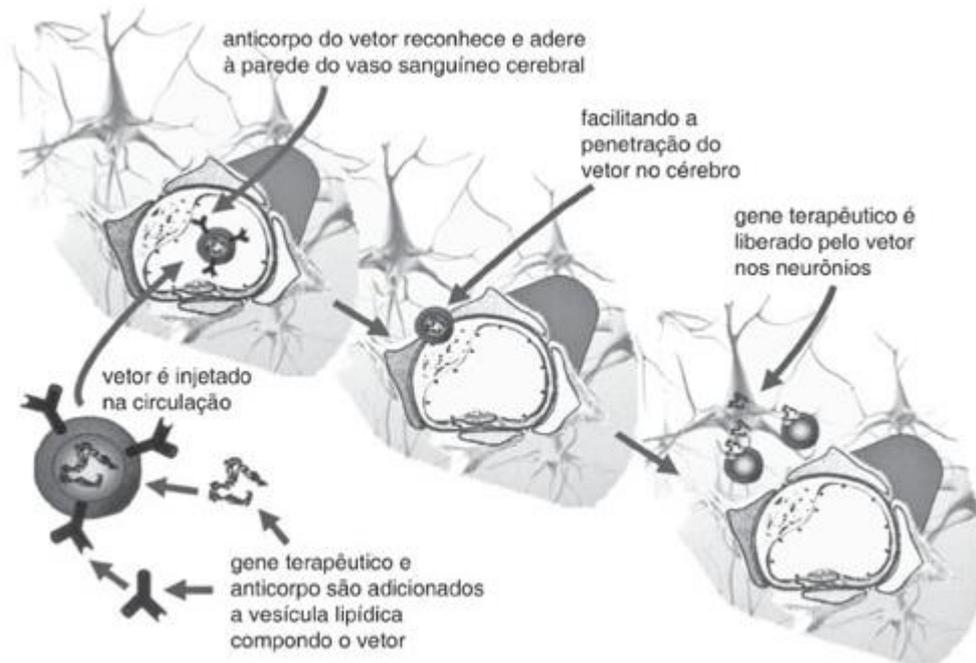
O vírus basicamente é constituído de ácido nucléico podendo ser tanto de DNA quanto RNA, sendo este ácido nucléico contornado de uma capa protéica, e em algumas situações pode ser envolvido também por um envelope constituído de proteínas e lipídeos. Como o ciclo de vida do vírus necessita da liberação do seu ácido nucléico nas células do hospedeiro, isso o torna um promissor vetor de estudo, uma vez que os genes terapêuticos podem ser introduzidos de forma mais eficaz através da utilização desses vetores virais. Alguns destes vetores são derivados de adenovírus (IBRAHEEM; ELAISSARI; FESSI, 2013).

Essa família possui mais de 50 tipos diferentes de vírus que são responsáveis por causar conjuntivites e outras enfermidades. São vírus que a maioria da população possui anticorpos contra eles. Uma outra família de estudo são as dos retrovírus, que tem dentro da sua família o HTLV, causador de uma espécie de leucemia. E o HIV que causa a AIDS. Esses por sua vez, são pertencentes a uma subfamília, a dos lentivírus, que vem sendo alvo de estudo como possível fonte para vetores da terapia gênica (BUCH; BAINBRIDGE, ALI, 2008).

Por fim, os vetores nano estruturados são outra forma de introdução de DNA que se baseia em nanotecnologia. Essa técnica avançada baseia-se em polímeros que vão formar redes para prender o gene de interesse, e só irão soltar esse gene quando penetrarem nas células alvos, funcionando de forma similar a vesículas de lipídeos que contém o DNA. Tais polímeros possuem a capacidade de se fundir com a membrana presente nas células, e liberar seu conteúdo dentro das mesmas (AMER, 2014).

Este tipo de vetor pode ser enriquecido com moléculas que irão auxiliar, de modo a guiar para a célula alvo, permitindo também a transferência seletiva de um compartimento para o outro (figura 3). Como exemplo, a possibilidade da transferência do vetor, presente no sangue, para o cérebro. A vantagem principal desta técnica é que as células poderão produzir e secretar as moléculas terapêuticas, sem que haja a interferência do sistema imune do paciente (LINDEN, 2010).

Figura 3: Vetor não viral agregado às moléculas de endereçamento, tendo como exemplo um imunolipossomo para ser utilizado na transdução gênica cerebral. São inseridos anticorpos na superfície da vesícula, esses anticorpos vão contra o receptor de transferrina, que atuam nas paredes dos vasos sanguíneos presentes nos neurônios e no cérebro. Desta forma, quando o vetor é injetado na corrente sanguínea, se adere fortemente nas paredes dos vasos sanguíneos localizados no cérebro, facilitando sua penetração e introdução do gene de interesse (LINDEN, 2010).



Fonte: LINDEN, 2010.

Diante do exposto, a terapia gênica demonstra-se um procedimento capaz de possibilitar a cura de uma diversidade de doenças. No entanto, ressalta-se que a técnica ainda é de caráter experimental, mas o potencial para a sua utilização é enorme, podendo proporcionar um grande impacto em todas as áreas da saúde

### 2.3 As Principais Contribuições da Terapia Gênica para a Saúde

A medicina moderna dia após dia vem melhorando, através de novas descobertas importantes, e com isso promovendo testes e tratamentos para doenças que ainda são incuráveis (COLLET; GRILLON; CLAUDINE, 2013).

Dentre as estratégias inovadoras, a terapia gênica para o tratamento de câncer tem se tornado cada vez mais abordada, apesar de possuir inúmeras limitações. O conceito de “cavalo de tróia” tem se tornado cada vez mais revisado, trazendo deste

modo os vetores como os encarregados de transportar os genes sadios responsáveis pela cura ou amenização da doença (LINDEN, 2010).

Além das possibilidades da terapia gênica na cura de doenças genética, acredita-se que a terapia gênica poderia ser também utilizada no ramo esportivo de modo que, lesões sofridas por atletas possam ser reparadas. Tais lesões geralmente envolvem tecidos de difícil recuperação, como o caso tendões ou até mesmo ligamentos (AMER, 2014).

Neste caso, a terapia gênica atuaria na recuperação desses tecidos lesionados, proporcionando uma melhora rápida e efetiva. Outra possibilidade do uso seria para melhoramento genético, aonde atletas de alto nível poderiam, por exemplo, aprimorar seu desempenho físico através do recebimento de genes específicos que proporcionassem essa melhoria significativa (ARTIOLI; HIRATA; LANCHÁ JUNIOR, 2007).

Com relação à sua utilização em doenças cardíacas, como angina refratária, os tratamentos atuais demonstram uma crescente incidência depois de realizados. A terapia gênica torna-se uma possibilidade de cura, e para isso diversos ensaios clínicos vêm sido conduzidos, apresentando resultados positivos. No entanto, seu benefício clínico não foi devidamente comprovado (EIBEL et al., 2011).

Entre tais doenças as que têm maior ênfase são as doenças genéticas. Para que tal cura seja promovida é necessária a identificação dos genes que são responsáveis por causar determinada patologia, assim como o desenvolvimento da tecnologia do DNA recombinante que por muitas vezes também é chamada de “engenharia genética”, trazendo de tal modo maior eficiência e segurança para a realização da técnica (LINDEN, 2010).

A terapia gênica ainda é uma área iniciante na medicina, sendo, portanto praticada em laboratórios de pesquisa, e tendo suas aplicações experimentais. No entanto, já existem nessa área alguns produtos comerciais aprovados para uso médico. A expectativa, tanto dos cientistas quanto da indústria farmacêutica e de biotecnologia, é que haja a liberação dos protocolos para o uso dos genomas na prática médica e

no mercado de biológicos dentro dos próximos 5 a 10 anos, porém ainda havendo um número restritivo de aplicações (MENCK; VENTURA, 2007).

As aplicações da terapia gênica possuem como principais favorecidos os portadores de doenças genéticas, pois como apresentando, a introdução de genes sadios poderia reverter inúmeros quadros clínicos. Um bom exemplo de como a terapia gênica poderia ajudar é o caso de um indivíduo que é portador da hemofilia, que consiste em uma mutação em um dos genes que são responsáveis pelos fatores de coagulação (LINDEN, 2010).

Nesse caso, o indivíduo portador da hemofilia receberia o fator a ser reintroduzido no paciente. O seu tempo de coagulação voltaria ao normal, evitando hemorragias que poderiam até mesmo ser fatais. Para que isso ocorra, os genes codificadores dos fatores VIII e IX, que são representantes da hemofilia A e B, são clonados em diversos vetores diferentes (GRIFFITHS et al, 2002).

Para que ocorra o benefício terapêutico, torna-se necessário que esses genes sejam expressos em uma das células de algum tecido do próprio indivíduo, e que essa seja capaz de liberar o fator de coagulação no sangue. Neste caso, o tecido mais indicado é o do fígado, afinal o órgão é extremamente irrigado (MENCK; VENTURA, 2007).

A terapia gênica ainda é uma área nova que vem sendo alvo de investigações na ciência da saúde. No entanto, tem apresentando avanços significativos nos últimos anos, de modo que acredita-se que futuramente a terapia gênica será um tratamento extremamente efetivo para a cura de uma diversidade de doenças, que atualmente não possuem tratamento, são ineficientes ou apenas proporcionam uma melhora nos sintomas (ARTIOLI; HIRATA; LANCHÁ JUNIOR, 2007).

A técnica ainda apresenta-se em estágio experimental, apresentando problemas ainda em sua aplicação e risco de controle da mesma. Os estudos realizados em animais e em alguns humanos apresentam resultados satisfatórios (VERMA; WEITZMAN, 2005).

Uma das contribuições da terapia gênica foi o tratamento para a Síndrome da Imunodeficiência Combinada Severa (SCID). O primeiro relato de sua utilização em humanos foi no ano de 1990 pelo médico Willian French Anderson, que teve a autorização do comitê de ética (LINDEN, 2010).

O procedimento foi realizado em uma menina de quatro anos, que apresentava uma doença genética causada pela má formação da enzima adenosina desaminase (ADA), que é fundamental para o desenvolvimento do sistema imune. E por conta de inúmeras mutações no gene, que são responsáveis por codificar a enzima, ocasionam a deficiência de adenosina desaminase (IBRAHEEM; ELAISSARI; FESSI, 2013).

Com essa deficiência, ocorre a degeneração das células T presentes no sistema imune, constituído desta forma uma das principais causas da SCID. A doença em questão é representada pela sigla SCID-ADA. Crianças portadoras da SCID-ADA ficam conhecidas como “criança da bolha”, isso porque as crianças afetadas possuem uma baixa resistência a qualquer infecção (BUCH; BAINBRIDGE, ALI, 2008).

De maneira geral, quando não tratadas, estas crianças costumam morrer antes de alcançar o sexto mês de vida. Portanto as crianças acometidas por tal doença geralmente se encontram em isolamento. Um exemplo desse caso, relatado após um ano de tratamento feito através da maneira usual, que é por reposição de enzima administrada semanalmente através de injeções, essa criança depois de um ano de uso e de apresentar relativo sucesso, voltou a ser acometida por infecções freqüentes (LINDEN, 2010).

Ocorreu a evolução de uma alergia ao composto das enzimas que são utilizadas nas injeções. Portanto, diante disto os pesquisadores, a cada dois meses em média, retiravam células T contidas no sangue da paciente, inserindo junto a essas células o gene da ADA. Depois da realização deste processo, induziam a proliferação destas células no laboratório. Logo após a realização deste procedimento, as células que agora tinham sido tratadas eram devolvidas para o paciente (GRIFFITHS et al, 2002). O tratamento continuou a ser realizado até completar 2 anos, logicamente por medidas de segurança, a paciente continuou a receber as injeções de enzimas. A terapia gênica feita na paciente Ashanti teve resultados positivos, havendo uma melhora

clínica no seu quadro, de modo que alcançasse uma redução na quantidade necessária de enzimas que faziam necessárias para realizar a reposição. Houve também um segundo caso de sucesso no ano de 1991, em uma segunda paciente que tinha nove anos de idade, e que também obteve o resultado positivo (LIU, KIRN; 2008).

### **3 DESAFIOS E LIMITAÇÕES DA TÉCNICA**

Uns dos assuntos que possuem mais debates estão relacionados à garantia de sucesso da terapia gênica em humanos e as possíveis conseqüências de abordagens germinativas da prole. A única terapia que atualmente é aceita pela legislação, é a que consiste em células somáticas. Alguns questionamentos técnicos no que se trata da qualidade e estabilidade da expressão do transgene causaram controvérsias na terapia gênica (WIRTH; PARKER; HERTTUALA, 2013).

O que tem dificultado a realização dos testes de terapia gênica em humanos são fatores como o risco que o paciente enfrenta, além do receio no que se trata da engenharia genética humana. A utilização de vetores de transferência gênica viral, assim como os retrovírus, levantou desconfiança no quesito de segurança, quando ocorreu a demonstração da integração do transgene que poderia acontecer em uma região ativa, foi motivo de perigo aos pacientes (LINDEN, 2010).

Outro obstáculo do vetor de integração é o receio da mutagênese insercional. As principais ameaças, relacionadas às propriedades desses vetores, são para compor as áreas estabelecidas dos genes ou regiões transcricionalmente ativas, que podem desencadear uma mutagênese insercional e a oncogênese (LIU, KIRN; 2008).

O tipo celular utilizado na terapia gênica também é uma importante questão a ser tratada, visto que o mesmo é dividido em dois grupos. A terapia gênica de linhagem germinativa (espermatozóides, óvulos) pode ser alterada quando introduzidos genes funcionais que por sua vez vão ser agregados ao genoma. Nesse tipo de terapia ocorrem modificações hereditárias que podem ser passadas para as gerações futuras. Ainda no que se diz respeito à teoria, esse tipo celular é útil no combate a patologias genéticas e hereditárias (GONÇALVES; PAIVA, 2017).

No caso da terapia gênica de células somáticas, baseia-se no deslocamento de genes terapêuticos para células somáticas de determinado paciente. Se ocorrer alguma alteração ou efeito, estes por sua vez vão acometer apenas o paciente, não sendo transmitida para as futuras gerações (GONÇALVES; PAIVA, 2017).

Em terapias realizadas com células T, o receptor de antígenos quiméricos (CAR-T) consiste em uma imunoterapia onde há utilização/replanejamento de células imunes, como os linfócitos T dos pacientes, como forma de identificar e combater as células tumorais. Um dos quesitos mais minuciosos relacionados aos efeitos adversos da terapia CAR-T é o reconhecimento das células não tumorais que manifestam-se no epítome alvo pelo CAR (VERMA; WEITZMAN, 2005).

Os antígenos presentes em tumores são moléculas de grande expressão em células tumorais, mas não são específicas delas. A síndrome de liberação de citosinas é outra toxicidade presente em terapia de CAR-T, quando o sistema imune é ativado após a infiltração de CAR-T pode ocorrer um aumento acelerado dos níveis de citosinas inflamatórias (IBRAHEEM; ELAISSARI; FESSI, 2013).

#### **4 DISCUSSÕES ÉTICAS NA UTILIZAÇÃO DA TERAPIA GÊNICA**

A chance de alterar geneticamente espécies germinativas tem causado debates na área da ciência. Quando novas técnicas são propostas, a bioética está pronta para analisar os perigos do procedimento e as sugestões morais implicadas. A maioria dos pesquisadores envolvidos com a técnica em questão é a favor da terapia gênica em células somáticas, especialmente quando o assunto são doenças com causas graves, como por exemplo, a fibrose cística e a distrofia muscular de Duchenne (GONÇALVES; PAIVA, 2017).

No ano de 2015, pesquisadores chineses foram além dos quesitos morais e revelaram a realização de modificação genética de células embrionárias por meio do método de CRISPR-Cas9. Subsequentemente, outro grupo chinês realizou o mesmo procedimento como forma de oferecer resistência ao HIV implantando a mutação do gene CCR5. Durante a análise genética, foi possível demonstrar que 4 dos 26 embriões sofreram alterações e alcançaram resultados positivos (LIU; KIRN; 2008).

No entanto, esses procedimentos trouxeram novamente controvérsias nas publicações acerca das técnicas em genética. O Comitê de Ética japonês foi a favor de como o método foi realizado, visto que receberam consentimento do Comitê de Ética local pelo estudo que foi feito, além de alcançarem a aceitação das doadoras de óvulos. Porém, no Reino Unido foi permitida a primeira proposta de reprodução do embrião humano saudável. Em contradição, alguns grupos de pesquisas americanos continuaram defendendo seu ideal indo contra o experimento, cobrando melhorias das técnicas e explicação de quesitos éticos (GONÇALVES; PAIVA, 2017).

A maioria das empresas que desenvolve técnicas baseadas na terapia gênica tem ficado a frente das novas descobertas, e a forma como estão sendo empregadas em ações de importância econômica pode não ser de interesse de todas as partes da sociedade. A compreensão científica deve estar lado a lado da sabedoria, o que não tem sido frequente. Esses questionamentos e inovações devem ser um assunto amplo entre a população, como forma de esclarecer sobre o que é feito, as vantagens, riscos e melhorias que podem ser alcançadas (VERMA; WEITZMAN, 2005).

Grupos que são contra essas inovações pelo fato de possuírem receio de algo novo e que não seja por eles esperado, questionam os geneticistas sobre estarem brincando de ser Deus. Os grupos que são a favor das inovações genéticas relatam que estas questões deveriam ser aplicadas de forma análoga à manipulação de medicamentos e outros métodos clínicos, que modificam o percurso normal de qualquer doença. Os defensores da técnica acreditam que o sucesso alcançado nessas pesquisas, em busca da cura para doenças que acometem grande parte da população, justifica os investimentos (BUCH; BAINBRIDGE; ALI, 2008).

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A terapia gênica tem como finalidade proporcionar métodos de tratamento para diferentes tipos de doenças, apresentando também aplicações diversificadas para buscar uma cura em que não haja grandes efeitos controversos. Há vários estudos e ensaios clínicos que almejam uma forma de comprovar a eficiência da terapia gênica.

Essas pesquisas demonstram a forma que a biotecnologia tem auxiliado com resultados positivos da preparação de genes e utilização da terapia.

Por mais que sejam apresentadas diversas vantagens no uso da mesma, ainda assim encontram-se dificuldades que consistem na restrição da tecnologia, a eficácia que ainda está sendo alvo de pesquisas. O que causa um vasto julgamento, além dos efeitos julgados como desconhecidos por parte da população, que por sua vez tem certa preocupação do que se torna novo no seu dia a dia, é o julgamento ético dessa prática. Adicionalmente, a defesa da tese de que estão brincando de ser Deus também tem dificultando cada vez mais o desenvolvimento das pesquisas.

## 6 REFERÊNCIAS

AMER, M. H. **Gene therapy for cancer: present status and future perspective.** Molecular and Cellular Therapies, Shanghai, v.2, n.7, ago, 2014.

ARTIOLI, Guilherme Giannini; HIRATA, Rosário Dominguez Crespo; LANCHÁ JUNIOR, Antonio Herbert. Terapia gênica, doping genético e esporte: fundamentação e implicações para o futuro: TERAPIA GÊNICA EM ATLETAS. **Revista BrasMed Esportes**, São Paulo, v. 13, n. 5, p.352-352, 2007.  
BUCH, Prateek K; BAINBRIDGE, James; ALI, Robin. **AAV-mediated gene therapy for retinal disorders: from mouse to man.** **Gene Ther.** 2008 Jun;15(11):849-57.

COLLET, Guillaume; GRILLON, Catherine; CLAUDINE, Kieda. **TROJAN HORSE AT CELLULAR LEVEL FOR TUMOR GENE THERAPIES.** 2013.

DULAK, Jozef; UCHTO, Joanna; JOZKOWICZ, Alicja. **50 YEARS OF GENE THERAPY: A CONTRIBUTION OF WACLAW SZYBALSKI TO SCIENCE AND HUMANITY.** 2017.

EIBEL, Bruna et al. **Terapia gênica para cardiopatia isquêmica: revisão de ensaios clínicos.** 2011.

GONÇALVES, Giulliana Augusta Rangel; PAIVA, Raquel de Melo Alves. **Terapia gênica: avanços, desafios e perspectivas:** Gene therapy: advances, challenges and perspectives. 2017.

GRIFFITHS, Anthony et al. **Introdução à genética.** 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

INÊS, Maria. **TERAPIA GÊNICA: Biotecnologia III,** 2014.

IBRAHEEM, Dr.; ELAISSARI, A.; FESSI, H.. **GENE THERAPY AND DNA DELIVERY SYSTEMS.** 2013.

LINDEN, Rafael. Terapia gênica: o que é, o que não é e o que será. **Estudos Avançados**, [s.l.], v. 24, n. 70, p.32-69, 2010. FapUNIFESP (SciELO).

LIU, T.; KIRN, D. **Gene therapy progress and prospects cancer: Oncolytic viruses**. Gene Therapy, Londres, v. 15, n. 12, p. 877–884, jun, 2008.

MARCONI, Maria de Andrade; LAKATOS, Eva Maria. **Fundamentos de metodologia científica**, São Paulo, n.5, p.1 – 310, 2003.

MENCK, Carlos Frederico Martins; VENTURA, Armando Moraes. Manipulando genes em busca de cura: o futuro da terapia gênica. **Revista Usp**, [s.l.], n. 75, p.54-55, 1 nov. 2007. Universidade de São Paulo Sistema Integrado de Bibliotecas - Sibiusp.

NARDI, Nance Beyer; TEIXEIRA, Leonardo Augusto Karam; SILVA, Eduardo Filipe Ávila da. Terapia gênica. **Ciência & Saúde Coletiva**, [s.l.], v. 7, n. 1, p.110-113, 2002. FapUNIFESP (SciELO). PRODANOV, Cleber Cristiano; FREITAS, Ernani Cesar de. **Metodologia do Trabalho Científico: Métodos e Técnicas da Pesquisa e do Trabalho Acadêmico Rio Grande do Sul**, n.2, p 1- 277, 2013.

SZYBALSKI, Waclaw. **THE 50TH ANNIVERSARY OF GENE THERAPY: BEGINNINGS AND PRESENT REALITIES**. 2013.

TERAPIA Gênica: **Terapia com nanopartículas para minimizar sintomas da Síndrome do Olho Seco**. 2011.

VERMA, Inder M.; WEITZMAN, Mathew D.. **GENE THERAPY: TWENTY-FIRST CENTURY MEDICINE**. 2005.

WANG, Kui; KIEVIT, Forrest M.; ZHANG, Miqin. **NANOPARTICLES FOR CANCER GENE THERAPY: RECENT ADVANCES, CHALLENGES, AND STRATEGIES**. 2016.

WIRTH, Thomas; PARKER, Nigel; YLÄ-HERTTUALA, Seppo. **HISTORY OF GENE THERAPY**. 2013.