



JESSICA SANTOS

O BENEFÍCIO DO USO DA TERAPIA GÊNICA

SOROCABA
2021

JESSICA SANTOS

O BENEFÍCIO DO USO DA TERAPIA GÊNICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade Anhanguera, como requisito parcial para a obtenção do título de graduado em Curso de Biomedicina.

Orientadora: Lorena Souza

JESSICA SANTOS

O BENEFÍCIO DO USO DA TERAPIA GÊNICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade Anhanguera, como requisito parcial para a obtenção do título de graduado em Curso de Biomedicina.

Orientadora: Lorena Souza

BANCA EXAMINADORA

Prof(a). Titulação Nome do Professor(a)

Prof(a). Titulação Nome do Professor(a)

Prof(a). Titulação Nome do Professor(a)

Cidade, dia de mês de ano (Fonte Arial 12)

SANTOS, Jessica. **O benefício do uso da terapia gênica**. 2021. 27 fs. Trabalho de Conclusão de Curso. Graduação em Biomedicina. Faculdade Anhanguera, Sorocaba, 2021.

RESUMO

A terapia gênica substitui um gene defeituoso ou adiciona um novo gene na tentativa de curar doenças ou melhorar a capacidade do corpo de lutar contra doenças. A terapia gênica funciona substituindo ou inativando genes causadores de doenças. Em alguns casos, a terapia genética introduz novos genes no corpo para tratar uma doença específica. O problema que norteou esse tudo foi conhecer por que existe certa resistência no uso da técnica da terapia genica? Como objetivo geral foi pautado compreender o uso da terapia genica no tratamento de determinadas doenças. Conclui-se que, sucessos pontuais já solidificam a viabilidade de tratamentos por terapia gênica na prática clínica, sendo uma forma alternativa para pacientes com doenças congênitas ou desordens monogênicas e câncer, especialmente quando as intervenções farmacológica ou cirúrgica não apresentam bons resultados. Portanto, historicamente, a terapia gênica, assim como a descoberta dos antibióticos e quimioterápicos, ou qualquer nova tecnologia necessita de mais estudos pré-clínicos elucidatórios.

Palavras-chave: Terapia Genética. NUCLEASE TALEN. CRISPR/ Cas9.

SANTOS, Jessica. **The benefit of using gene therapy**. 2021. 27 fs. Course Completion Work. (Graduation in Biomedicine). Faculdade Anhanguera, Sorocaba, 2021.

ABSTRACT

Gene therapy replaces a defective gene or adds a new gene in an attempt to cure diseases or improve the body's ability to fight diseases. Gene therapy works by replacing or inactivating disease-causing genes. In some cases, gene therapy introduces new genes into the body to treat a specific disease. The problem that has guided this all knew why is there a certain resistance in the use of the technique of genic therapy. The general objective was based on understanding the use of genic therapy in the treatment of certain diseases. It is concluded that, punctual successes already solidify the viability of treatments by gene therapy in clinical practice, being an alternative form for patients with congenital diseases or monogenic disorders and cancer, especially when pharmacological or surgical interventions do not present good results. Therefore, historically, gene therapy, as well as the discovery of antibiotics and chemotherapy, or any new technology requires further elucidatory preclinical studies.

Keywords: Gene therapy. NUCLEASE TALEN. CRISPR/ Cas9.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	6
1 OS BENEFÍCIOS DA TERAPIA GENÉTICA	8
2 SISTEMA TERAPÊUTICOS USADO NA TERAPIA GÊNICA	14
2.1 NUCLEASE TALEN.....	14
2.3 CRISPR/ CAS9.....	16
3 TERAPIA GÊNICA COMO TRATAMENTOS ALTERNATIVOS PARA DOENÇAS GENÉTICAS	19
3.1 OS RISCOS DE UMA TERAPIA GENÉTICA	22
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	23
REFERÊNCIAS	24

INTRODUÇÃO

Com o surgimento das novas tecnologias, a Biomedicina, foi uma das áreas privilegiadas devidos as grandes possibilidades de testes que a informática vem proporcionando a realização. O surgimento da terapia gênica é um dos resultados da evolução tecnológica que a cada dia vem evoluindo cada dia mais. Existem inúmeras definições para terapia genica, mas, em linhas gerais no momento pode ser explicada como um procedimento de modificações genéticas em células como uma forma de tratar uma determinada doença.

O presente estudo abordou um tema pouco falado na mídia ou nos canais digitais, mas, na área médica tem tido grande repercussão devido seus benefícios e os resultados após aplicação do tratamento com pacientes em caso críticos. É um tratamento que não se adequa a todos tipos de doenças, mas, pode aliviar um grupo suficiente que esteja em condições de dor e mal-estar. No decorrer do trabalho foi descrito como desenvolveu a terapia genica, os benefícios que ela traz a determinado tipo de doença se aplicado corretamente. Também será apontado as vantagens e desvantagens do uso dessa terapia para o paciente e por último a contribuição dessa terapia para os pacientes.

O Estudo tem sua importância devido o conhecimento ser o caminho para as pessoas aprender sobre as coisas novas e descobrirem o mundo. A área da Biomedicina, traz um vasto campo para ser pesquisado que levaria anos de estudo. Para comunidade científica esse assunto com certeza irá contribuir com novas informações, pois, tem pouco material disponível impresso para ler, espero que esse trabalho seja diferente, que esteja ao alcance dos colegas universitários e tenham a oportunidade de conhecer um pouco mais sobre esse tema.

O problema que norteou esse tudo foi conhecer por que existe certa resistência no uso da técnica da terapia genica? Como objetivo geral foi pautado compreender o uso da Terapia genica no tratamento de determinadas doenças. Com relação aos objetivos específicos relacionados ao tema foram elencados os seguintes: descrever a terapia gênica e seus benéficos; apontar os sistemas terapêuticos da terapia gênica e compreender a terapia gênica como tratamentos alternativos para determinadas doenças.

Para esse tema foi realizada uma Revisão de Literatura, pesquisados livros, dissertações e artigos científicos selecionados através de busca nas seguintes bases

de dados (livros, sites de banco de dados Bireme, Scielo, Pubmed, O período dos artigos pesquisados serão os trabalhos publicados nos últimos “15” anos. As palavras-chave utilizadas na busca foram:” Terapia ”, “Prevenção ” e ” Tratamento ”.

1 OS BENEFÍCIOS DA TERAPIA GENÉTICA

Os avanços na tecnologia e na ciência levaram a grandes inovações médicas que nos permitiram superar doenças e oferecer novos cuidados. É cada vez mais importante prestar atenção ao bem-estar e à saúde das pessoas, não apenas para tratar doenças, mas também para preveni-las ou abordar suas causas profundas (PÉREZ-LÓPEZ et al., 2013).

O Índice de Inovação Global 2019 da Organização Mundial de Propriedade Intelectual relata que 10 descobertas médicas farão a diferença no mundo. Isso inclui análise de uma única célula, mapeamento cerebral, detecção precoce do risco de Alzheimer, desenvolvimento de tratamentos eficazes para lesões da medula espinhal, tratamentos inovadores para dor crônica, imunoterapia do câncer, novas vacinas para prevenir HIV, gripe e outras doenças infecciosas, ainda preparando o mundo para a próxima pandemia, edição genética para tratar as causas raízes de doenças, medicina de precisão com diagnósticos individuais, tratamento e cuidados para cada pessoa

A engenharia genética revolucionou a concepção humana. Ele permite o mapeamento genético para identificar genes defeituosos e manipulação de genes. Isso também fornece o diagnóstico pré-implantação. A possibilidade de inserir um embrião saudável no útero por meio de reprodução assistida ou clonagem é possível. Esses avanços inimagináveis foram acompanhados pela ciência médica por meio da Genética, que introduziu novas formas de cuidar da saúde. Não só você pode tratar, mas também medicina preventiva. A engenharia genética é agora uma ferramenta capaz de melhorar significativamente a qualidade de vida e trazer esperança para a cura de doenças (PÉREZ-LÓPEZ et al., 2013).

Engenharia genética para melhoramento e melhoramento genético são sinônimos neste sentido. No melhoramento genético, o objetivo não é tratar ou prevenir doenças, mas alcançar outro resultado como aumento de estatura, inteligência ou resistência a doenças, ou ainda melhor desempenho no esporte, que é representado pela terapia gênica. A terapia gênica é outro desenvolvimento da engenharia genética. Tem como objetivo curar ou prevenir doenças que estão geneticamente ligadas (PIERCE, 2011).

1.1 VETORES NA TERAPIA GENÉTICA

Para garantir que a terapia gênica funcione, o veículo deve ser capaz de transportar material extracromossômico de forma eficiente para a área alvo e distribuí-lo de maneira eficaz. A Terapia genética é todo o tratamento que trata uma doença comumente genética e que pode ser tanto da forma adquirida ou hereditária enquanto insere genes em células específicas no hospedeiro para reverter o quadro e possui terapia bem-sucedida quando genes são geralmente poderosos em vez de medicamentos (FÉCCHIO et al., 2015).

A terapia gênica é uma tecnologia que permite a transferência de genes para várias células, tecidos e órgãos. Isso é essencial para atingir esse objetivo. O desenvolvimento de vetores seguros e eficientes que possam transportar material genético para as células é um dos maiores obstáculos para o sucesso da implementação desses tratamentos. Terapia genética é focada em doenças hereditárias monogênicas são geralmente detectadas no começo. Para o tratamento dessas doenças, no entanto, os vários ensaios clínicos e também infecciosos como o HIV, doenças oncológicas, e o câncer são verificados neste contexto (PEREIRA, 2015).

Esta terapia é uma área que atualmente permitiu a expansão do tratamento de doenças que podem ser, por exemplo, genéticas (hemofilia), adquiridas (câncer) e viral (HIV). Dentro desta área, uma das possíveis técnicas é usar o DNA recombinante, no qual o gene de interesse é incorporado em um vetor. Na verdade, esta técnica é usada pela sua eficiência, cruzando a membrana e a inserção do material genético (MISRA, 2013)

Vetor é o nome do veículo que distribui o gene. O vetor deve entregar genes que sejam grandes o suficiente para serem úteis em aplicações clínicas e ser imunogênicos. Para entregar o gene de forma mais eficiente às células-alvo, existem muitos tipos de vetores (KHAN et al., 2016; FECCHIO et al., 2018).

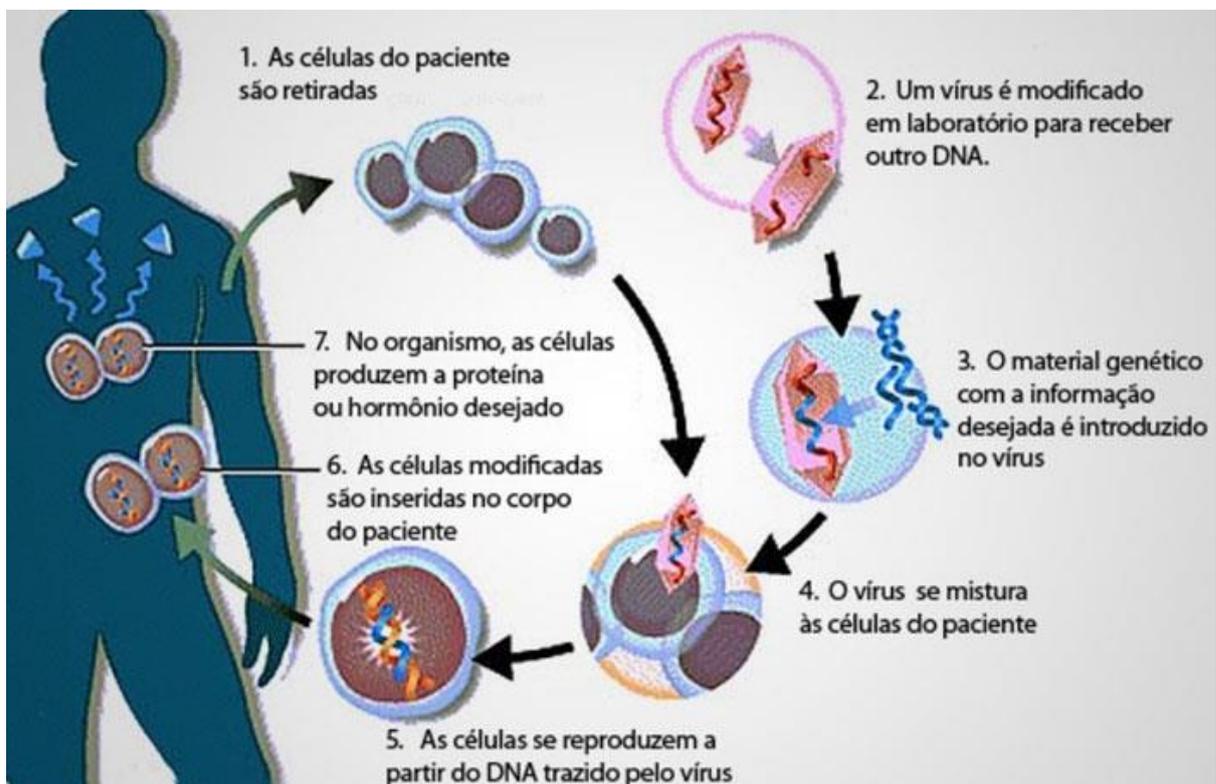
A terapia gênica é um método de inserção de genes exógenos em genomas humanos. Esses vetores precisarão superar os mecanismos imunológicos de destruição e escapar dos mecanismos imunológicos que permitem a entrada do material genético pela bicamada lipídica celular. Atualmente, plasmídeos e vetores virais são muito importantes (LINDEN ,2010; GONÇALVES; PAIVA 2017).

A terapia gênica permite a correção de genes deficientes que causam uma doença. Existem muitas maneiras de corrigir esses genes. A abordagem mais comum é inserir um gene genético normal em um local não específico do genoma para substituir um gene anormal. A recombinação é outra forma de corrigir esses genes. É quando um gene anormal pode ser trocado por um gene normal. Terapia gênica, também conhecida como recombinação, é a alteração, adição ou deleção de genes em células e tecidos biológicos para o tratamento de doenças (PATIL, 2016).

A terapia referida contribui para novas doenças do diagnóstico e tratamento de doenças, na qual uma dessas filiais é a nanobiotecnologia, que obteve a força na identificação de formas biológicas para resolver os diagnósticos atualmente difíceis e muitas vezes sem as reais soluções. Este tipo de engenharia genética permite a implementação dos métodos de armazenamento de informações no DNA de microrganismos vivos (PÁJARO et al., 2013).

A engenharia dos genes permite, ainda uma transição integralmente controlada artificialmente, criando assim novos componentes, células próprias e eufônicas e biomoléculas que podem no contexto mais favorável serem usadas para curar doenças genéticas (BERNAL et al., 2013).

Figura 1. Esquemático mostrando as etapas envolvidas na terapia gênica.



Fonte: Linden, (2010, p.38).

É raro o material genético passar pela membrana plasmática das células de maneira eficiente e íntegra. Portanto, é importante ter diferentes métodos de entrega para o DNA chegar às células-alvo.

É por isso que um portador, ou "vetor", é necessário. Facilita a entrada do DNA nas células. Resultados positivos foram relatados para a doença de Parkinson usando terapia genética. Os pesquisadores desenvolveram um novo método para aumentar os níveis de um neurotransmissor chamado ácido gama-aminobutírico (GABA), que costuma ser deficiente em pacientes com Parkinson.

A terapia gênica é basicamente o processo de inserir uma pequena quantidade de material genético em uma célula-alvo para retardar ou curar uma doença. Para atingir esse objetivo, deve ser desenvolvida uma tecnologia que permita a transferência segura de genes para uma ampla gama de tecidos, células e órgãos. O principal problema é o desenvolvimento de vetores capazes de atender a todos os requisitos de produção e transporte de material genético.

1.2 TERAPIA GÊNICA

A medicina moderna está melhorando dia a dia por meio de novas descobertas e da promoção de tratamentos e testes para doenças incuráveis (COLLET; GRAILLON; CLAUDINE 2013., 2013).

A terapia gênica tem sido uma estratégia fundamental na luta contra o câncer. No entanto, ainda é uma opção muito limitada. "Cavalo de Tróia" é um conceito que foi reinterpretado. Os vetores agora são responsáveis por transportar genes saudáveis para curar ou aliviar a doença (LINDEN,2010)

A terapia gênica ainda é uma área emergente da medicina. Atualmente é praticado em laboratórios de pesquisa e tem aplicações experimentais. No entanto, existem alguns produtos que podem ser usados para fins médicos nesta área. Cientistas e a indústria de biotecnologia e farmacêutica esperam que os protocolos para o uso de genomas na prática médica estejam disponíveis dentro de 5 a 10 anos. No entanto, ainda há um número limitado de aplicativos (VENTURA,2007).

As questões mais polêmicas são aquelas que cercam a terapia gênica e como garantir o sucesso nos seres humanos. As células somáticas são o único tipo de terapia atualmente reconhecida pela legislação. A terapia gênica tem sido criticada

por questões técnicas relacionadas à estabilidade e qualidade da expressão do transgene (WIRTH; HERTTUALA, 2013).

É importante abordar o tipo de célula usado na terapia genética. Existem dois tipos. Genes funcionais podem ser introduzidos em espermatozoides e óvulos para alterar a terapia gênica da linha germinativa. Esta terapia permite alterações hereditárias que podem ser transmitidas à próxima geração. Esse tipo de célula pode ser usado para combater doenças genéticas e hereditárias (GONCALVES, PAIVA, 2017).

1.3 TIPOS DE TERAPIA GÊNICA

Existem dois tipos de técnicas em terapia genética, ou seja, as formas de derramar e as somáticas. A técnica germinativa consiste na introdução de genes em Zigoto, células decorrentes de fertilização ou ovos e espermatozoides. Portanto, as células dessas células germinativas terão o gene de interesse em seu genoma (AMER, 2014).

A técnica somática consiste na introdução de genes nas células somáticas, ou seja, células não germes. Células somáticas formam a maior parte do organismo. Essa técnica é mais comumente usada e não há transmissão de genes para descendentes, como na técnica germinal.

A pesquisa em terapia gênica já é generalizada pelo mundo, o que contribui para cerca de 30 países para o desenvolvimento de clínico, vetorial, imunoxo e outros. Os Estados Unidos lideram o número de ensaios clínicos com 65,1% dos estudos, enquanto outras nações da Europa representam um quantitativo de 28,3%, no caso Reino Unido, Alemanha, França e Suíça (AMER, 2014).

No entanto, o Brasil ainda começa o desenvolvimento desse tipo de pesquisa, com pouca participação no cenário internacional. Quanto às doenças mais estudadas e dos ensaios clínicos, no caso o câncer é o que se destaca na liderança. Doenças cardiovasculares também têm uma boa representação, enquanto os distúrbios monogênicos que tomam o segundo posicionamento em relação ao número de ensaios clínicos possuem os maiores resultados de revisão de literatura (KENNEDY; CULLEN, 2017).

Novamente, a terapia genética aparece como uma possibilidade de tratar a doença ao longo do tempo, sem cura, como também se aplica aos procedimentos de

risco e, portanto, vários testes reais são realizados para testar sua segurança. Há também muitos problemas éticos com esta terapia, à medida que muda sua natureza. Portanto, deve haver um controle do que pode ou não se alinhar com este tipo de tratamento.

Em geral, é uma terapia que melhor aceita as doenças graves, o que pode levar à morte conforme cada caso estabelecido. Há também outras doenças que levam a pessoa a caracterizar como "anormalmente social", uma vez que o caso de doença mental está propenso a maior resistência (AMER, 2014).

2 SISTEMA TERAPÊUTICOS USADO NA TERAPIA GÊNICA

A edição de genes é construída em tecnologias que geralmente exigem nucleases programáveis, que desempenham papéis cruciais para permitir a edição de genomas. Eles incluem ZNF, nucleases de dedo de zinco (ZNF), bem como Nucleases com efeitos pertencentes ao tipo ativador transcricional (TALEN) e a nuclease Cas9 encontrada em CRISPR / Cas9. Eles podem produzir a quebra de uma fita dupla de DNA em determinados locais. As quebras são reparadas por meio de mecanismos como o reparo dirigido por homologia (HDR), bem como a união terminal não homóloga (UTNH) (COX et al., 2015).

Reparos direcionados por homologia (HDR) é um método para reparar genes que foram alterados que restauram totalmente a função, bem como reativam a expressão de genes corretos, e servem a um propósito ao empregar DNA exógeno para um modelo que expressam genes terapêuticos. Eles podem ser colocados em locais específicos, diminuindo a possibilidade de mutações e aumentando sua expressão (LISTIK; CARMO, 2016).

Reparos causados por união terminal não homóloga (UTNH) é resultado de mudanças estruturais que são diretamente desencadeadas pela quebra da fita dupla. O processo produz reparos de alta precisão, mas também está ligado a mutações, como deleções ou inserções. Reparos baseados em UTNH podem ser códons adicionados prematuramente que param genes importantes e causam uma interrupção no processo de transcrição (ARONIN; DIFIGLIA, 2014; PEREZ et al, 2008).

Os mecanismos de reparo do DNA, tanto via reparo de união terminal não homóloga quanto dirigido por homologia, são uma parte do reparo interno de dupla fita do DNA. As nucleases existem para regular e controlar o alvo da terapia de uma determinada maneira por meio de métodos, como TALEN ZNF e também CRISPR / Cas9 (LISTIK; CARMO, 2016).

2.1 NUCLEASE TALEN

Nucleases que têm Efetores Ativadores Transcricionais (TALEN) são domínios de ligação de DNA que são customizados e ligados a uma endonuclease conhecida

como FokI que pode ser capaz de clivar o DNA e estimular a edição (JOUNG; SANDER, 2013).

De acordo com Cermak et al., (2011) efetores do tipo ativador de transcrição são proteínas simples de usar e fáceis que são colocadas em vetores de plasmídeo dentro da célula hospedeira. Ao entrar no núcleo, eles se ligam a sequências específicas dentro dos promotores da célula hospedeira. Eles então iniciam o processo de transcrição. A especificidade de sua direção é encontrada no domínio central, composto por 32-35 aminoácidos repetidos.

Deste modo, os domínios de ligação ao DNA originam-se das proteínas Xanthomonas Bacteria com sequências repetidas. Eles são criados pelos resíduos altamente variáveis que estão presentes entre aqueles nos 13 e 12 locais do domínio que são responsáveis por reconhecer bases que são nitrogenadas no DNA. Eles são extremamente diferentes de HD, NI, NN e NG e NG, que são responsáveis por reconhecer cada base nitrogenada A T, C and G (BOCH et al., 2009).

O método TALEN é capaz de promover a edição na união terminal não homóloga e também através do reparo direcionado por homologia. Isso poderia causar mutações devido à paralisação imediata com a introdução de códons de parada que podem levar à doença, bem como resultar em inserções ou exclusões massivas de sequências de DNA (CARLSON et al., 2012).

2.2 NUCLEASES DEDOS DE ZINCO (ZNF)

Os desenhos dos dedos de zinco são editados, os quais são responsáveis pelo reconhecimento e clivagem da fita dupla do DNA em certos locais. São proteínas criadas pela interação de endonucleases e proteínas dedo de zinco (KIM et al. (2011)).

Segundo Vasconcelos; Figueiredo, (2016) é um poderoso instrumento de execução do silenciamento gênico, também conhecido como knockout, que é possível pela reparação da união terminal não homóloga e pelo reparo direcionado por homologia, e pela introdução de genes ou pela correção de mutações em genes.

Com base em Klug, (2010), os dedos de zinco possuem pequenos domínios de proteínas, que utilizam o zinco como estabilizador estrutural e de temperatura. Eles são encontrados em uma variedade de proteínas que reconhecem sequências de DNA responsáveis por fatores de transcrição. Isso é feito por meio da interação

cruzada entre as bases nitrogenadas e de aminoácidos encontradas nos dedos de zinco e na fita de DNA.

Os estudos realizados por Listik e Carmo (2016) demonstram o fato de que as nucleases de dedos de zinco surgem por uma variedade de associações de nucleases de dedos de zinco com a endonuclease FokI que são caracterizadas pelo fato de seus pequenos domínios serem estabilizados pelo zinco. Isso pode ser devido a interações diretas com a fita de DNA cruzado 3'-5' ou 5'-3' que reconhece a sequência e, conseqüentemente, desencadeia a quebra.

De acordo com Kandavelou et al., (2009), dedos de zinco são feitos através de módulos compostos de pelo menos dois domínios de dedos de zinco que são ligados pela enzima FokI que requer dois pares de dedos de zinco projetados para serem usados na edição de genes, a fim de para se ligar ao DNA, permitindo assim a clivagem do DNA.

Nas palavras de Vasconcelos; Figueiredo (2016) após a quebra da dupla fita do DNA e os mecanismos de reparo são colocados para reparar o dano causado, porém, o reparo da união terminal não homóloga nem sempre é planejado, podendo resultar em deleções, adições que podem alterar a transcrição do DNA criando várias proteínas.

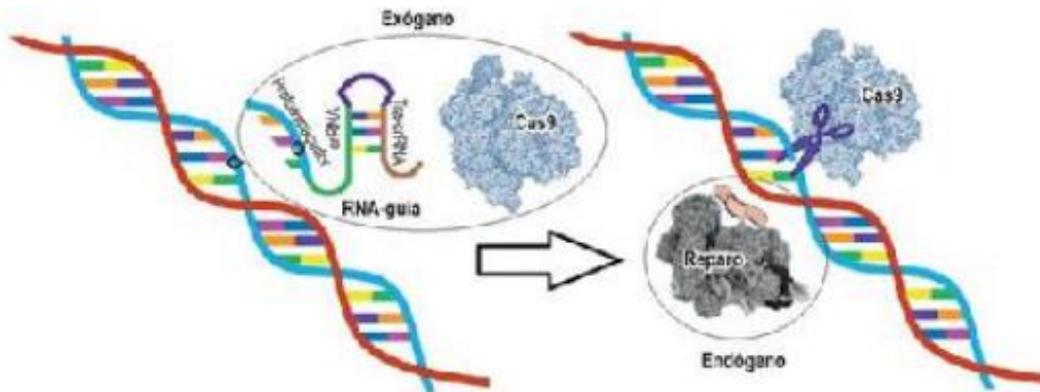
Conforme afirmam os mesmos autores em seus achados, o uso desta droga está associado a doenças contagiosas e infecções como o tratamento contra o vírus HIV. Nesse caso, eles empregaram a nuclease de dedo de zinco para desativar o gene CCR5 que está localizado nas membranas que circundam os linfócitos T CD4 + para que o linfócito desenvolvesse resistência ao vírus.

2.3 CRISPR/ Cas9

O CRISPR (Agrupados, bem como Repetições Palindrômicas Curtas Intercaladas Regularmente) e associados a CRISPR (Cas9) são os genes mais importantes que estão envolvidos no sistema imunológico bacteriano. A descoberta foi feita no ano de 1980 no genoma da bactéria. O gene CRISPR-Cas9 está entre os sistemas que apresentam alta eficácia e são simples de manipular, permitindo sua utilização na edição de genes. O sistema CRISPR Cas9 é composto por uma série de repetições palindrômicas intercaladas. Eles são intercalados entre pedaços de DNA

de microrganismos (motivo protoespaçador adjacente) e também por operons de genes Cas9 (CASTRIGNANO, 2017; REIS et al., 2014).

Figura 1. Sistema CRISPR/Cas9 - mecanismo de reconhecimento do alvo



Fonte: AREND et al, 2017.

A quebra da fita dupla de DNA poderia ser alcançada pela associação de uma endonuclease Cas9 com termos CRISPR para RNA (crRNA) e também com crRNA que é ativado por meio de trans (TranscrRNA) formando o complexo. Cas9 poderia ser controlado por meio da introdução do RNA sintético que é composto de transcrRNA e crRNA que foram hibridizados que atuam como um fator de transcrição distinto e quimérico responsável por clivar as sequências de DNA que são significativas (LISTIK; CARMO, 2016).

Endonuclease é um domínio que inclui RuvC e HNH. É distinguido pelo motivo localizado perto do protoespaçador responsável por revestir a extremidade 3' que é o alvo do DNA que atua como um pesquisador de proteína que é então transformado em uma endonuclease específica e capaz que pode ser programada (NISHIMASU et al, 2014).

Cada domínio tem a tarefa de clivar uma das fitas de DNA identificadas pelo sistema CRISPR / Cas9. Por uma mutação em qualquer um desses domínios é possível ativar por esse processo, e proteínas de adesão que reconhecem um alvo específico podem ser produzidas por clivagem em uma fita de DNA (DOUDNA; CHARPENTIER, 2014).

O mecanismo CRISPR-Cas9 pode desencadear quebras de DNA em fitas duplas, via reparo dirigido por homologia ou unificação de terminal não homólogo, que

eles podem usar para desenvolver novos modelos de terapia gênica, removendo mutações em sequências que causam distúrbios genéticos ou adquiridas como HIV / AXLIA. (LISTIK; CARMO, 2016).

O sistema Cas9 também é capaz de funcionar interagindo com uma estrutura de guia de RNA que é criada por crRNA sintético e transcrRNA unidos por meio de um loop. É responsável por guiar e clivar em certos pontos por meio de reparo dirigido por homologia. Essa tecnologia tem se mostrado promissora no corpo humano, pois permite a edição genética, podendo auxiliar no tratamento de mutações causadoras de distúrbios genéticos e erros metabólicos inatos, bem como no combate a vírus que se ligam ao DNA, por exemplo, o HIV (CASTRIGNANO 2017; JINEK, 2014).

Um dos desafios do sistema é que ele faz uso de vetores que são virais como um veículo para trazer o sistema para o interior do passado, uma vez que esses vetores são capazes de infectar células múltiplas, e não são capazes de gerenciá-las uma vez que elas foram introduzidas, o que levanta dúvidas quanto aos riscos potenciais associados à sua utilização. Diante disso, técnicas alternativas estão sendo avaliadas incluindo plasmídeos e métodos físicos como a eletroporação para minimizar os riscos e, conseqüentemente, o procedimento torna-se cada vez mais seguro de se empregar (KENNEDY; CULLEN, 2017).

3 TERAPIA GÊNICA COMO TRATAMENTOS ALTERNATIVOS PARA DOENÇAS GENÉTICAS

A partir das informações sobre a unidade de DNA que é a base da hereditariedade, a capacidade de fazer alterações no genoma para ser uma das opções terapêuticas da medicina moderna está o tempo todo. Isso, por sua vez, permite a correção de genes que estão alterados, ou mudanças em locais específicos, permite o aprimoramento da genética de pacientes que sofrem de problemas ao nível do DNA. Compreender os genes que contribuem para as características normais ou patológicas permite a plena aplicação dos conceitos da medicina genômica que irão alterar os métodos médicos para o diagnóstico e tratamento de várias doenças e quando a aplicação do tratamento com terapia gênica pode ser considerada uma alteração do gene ineficaz com um gene eficaz (GOLCALVES; PAIVA, 2017).

A terapia gênica era direcionada às doenças hereditárias monogênicas na época de sua introdução. Mas, uma série de estudos clínicos foram conduzidos atualmente para estudar o tratamento de doenças adquiridas e genéticas como HIV, bem como doenças oncológicas como câncer de pulmão, hemoglobinopatias, bem como doenças cardiovasculares (PEREIRA, 2015).

A hemofilia é um distúrbio genético que afeta a coagulação sanguínea que pertence aos distúrbios monogênicos com distúrbios hereditários recessivos ligados ao X que alteram os fatores VIII no contexto da hemofilia A, bem como a coagulação IX no caso da hemofilia B ambos os casos, eles têm os mesmos sintomas. A hemofilia é definida pela presença de sangramento que pode estar afetando articulações, tecidos e músculos. Pode ser desencadeado ou espontâneo na forma de dor, inflamação e danos. A hemofilia A está associada a 1 / 5-10000 homens. A hemofilia B tem uma taxa de 1 / 60.000. É a segunda doença mais prevalente depois da doença de Von Willebrand (GARCÍA-CHÁVEZ; MAJLUF-CRUZ, 2013).

Por ser uma condição de padrão de herança do cromossomo X, as manifestações hemorrágicas normalmente ocorrem em homens, no entanto, também podem ser vistas em mulheres em alguns casos, como no caso da síndrome de Turner (45, o X0) e também por meio de certas causas genéticas que causam sintomas que provocam a ativação de um X encontrados nas mulheres (CASTILLO-GONZALEZ 2012; MUNDO-AYALA; JALOMA-CRUZ, 2008.).

Por ser a hemofilia um distúrbio genético e a terapia gênica busca encontrar um tratamento abrangente para pacientes com hemofílicos utilizando técnicas como o CRISPR para fazer a utilização de vetores virais (adenovírus) que, embora seja um método que pode se revelar promissor, permanecem várias dúvidas a respeito. O procedimento, uma vez que não está totalmente ciente das consequências. Métodos inovadores de fatores de coagulação estão sendo estudados, incluindo administrações orais ou infusões que podem melhorar significativamente a eficácia da medicação (HORAVA; PEPPA, 2017).

A hemofilia é uma doença incurável, que pode afetar a vida dos pacientes e a saúde tanto de pacientes como de pacientes. Ao passar por atualizações, diagnósticos e investigações aprofundadas que revelam novos conhecimentos, é possível criar os produtos terapêuticos mais sofisticados e, por sua vez, novos métodos de cura por terapia gênica estão surgindo (MARTINEZ-SANCHEZ et al 2018).

É conhecido como câncer de pulmão e faz parte do grupo de doenças multifatoriais. Este é um câncer agressivo que é mais prevalente em mulheres e homens afetados pelo fumo de produtos de tabaco com alta taxa de mortalidade. É o segundo câncer mais comum que tem uma incidência aumentada em homens e o quarto com uma incidência aumentada em mulheres (ARAUJO et al., 2018).

O câncer de pulmão está entre os cânceres mais devastadores, ao lado do câncer de próstata e do câncer de mama. O câncer de pulmão é causado por um acúmulo de mutações em genes causadas por uma variedade de fatores como fumar cigarros, que danifica o epitélio do pulmão, o que causa mutações nas células que compõem o tecido, levando ao tumor (ROGRIGUES et al., 2018).

A neoplasia é resultado de DNA cancerígeno que foi alterado por causa do elemento carcinogênico nas vias aéreas. De acordo com pesquisas, é possível que a herança genética em conjunto com o tabagismo seja responsável por 50% dos casos de câncer de pulmão (VIEIRA et al., 2017).

O HIV não é atualmente uma cura para a doença ou vacina, pois o HIV é uma heterogeneidade genética imposta pelo hospedeiro. Isso requer a realização de pesquisas para tentar descobrir os fatores que contribuem para o desenvolvimento do HIV. É por isso que a descoberta de genes que podem ser candidatos é o principal foco de estudo (AN; WINKLER ,2010).

De acordo com Grande et al, (2019) a capacidade do vírus HIV de entrar na célula do receptor requer a conexão com o receptor de membrana CD4 que desencadeia a ativação do gene do co-receptor de HIV-I CCR5, bem como CXCR4. Esta interação é controlada pelo Gp120, a glicoproteína do HIV e o co-receptor CD4. Ele causa mudanças conformacionais para permitir a ligação.

A capacidade de alterar ou alterar genes vem com o problema de causar uma interrupção em uma determinada área na fita dupla do DNA. No caso do HIV, o CCR5 foi escolhido devido ao seu co-receptor que permite o acesso ao vírus HIV. O vírus é transmitido a indivíduos homocigotos que sofreram omissão de 32 pares de bases neste gene CCR5, empregando o método CRISPR / Cas9, tornando-se imunes à infecção (TEBAS et al., 2014).

De acordo com Liden (2010) a terapia gênica pode ser descrita como um tratamento alternativo para doenças não genéticas ou genéticas para introduzir o material genético (sendo genes modificados na forma de um vetor) dentro de células particulares no corpo da pessoa com a Objetivo de tratar o paciente para aumentar a resistência celular, impulsionar o sistema de regeneração ou reparo e determinar a função estrutural através da modulação do gene. Ele usa como método principal o DNA recombinante. A terapia gênica usa como base para a introdução de DNA nas células do órgão-alvo, mas a introdução de DNA puro não é normalmente empregada. É por isso que um vetor precisa ser empregado para ajudar a sustentar o DNA a ser inserido no paciente. Os vetores primários usados neste procedimento são vírus, plasmídeos, bem como vetores nanoestruturados.

Todo experimento realizado no mundo da bioética da ciência estará sempre avaliando os processos das novas técnicas para avaliar sua eficácia. O método de terapia gênica é amplamente aceito pelos pesquisadores, visto que auxilia no tratamento de doenças graves, como fibrose cística ou distrofia muscular de Duchenn. Porém, houve uma mudança nesse sentido no ano de 2000, quando os chineses empregaram a técnica em células embrionárias. Quatro de 26 embriões modificados com sucesso, o que mostrou que requer melhorias. Na esteira dessa conquista dos chineses, muitos países bateram com o martelo nessa pesquisa, como a do Reino Unido, aprovando seu primeiro projeto de pesquisa sobre a análise de embriões humanos. Por outro lado, os americanos não são fãs deste método e antecipam uma melhoria neste feito em particular (GONCALVES; PAIVA, 2017).

3.1 OS RISCOS DE UMA TERAPIA GENÉTICA

A terapia gênica é uma opção para o tratamento de doenças que não têm cura. No entanto, também é visto como um processo arriscado e, por isso, diversos estudos são realizados para avaliar sua segurança. A rotulagem disso como um procedimento de risco se deve ao fato de que, muitas vezes, os vírus são empregados como vetor junto com o gene de sua própria proteína que é entendida pelo corpo como uma substância estranha a ser derrotada (GINN, 2012).

O escritor explica que, neste caso, vários testes clínicos não deram resultados satisfatórios, seja pela impossibilidade de identificar a proteína produzida a partir do gene inserido, seja porque o tratamento não produziu os efeitos desejados. Além disso, as reações imunológicas que são desencadeadas pelo vetor de DNA implantado ou proteínas expressas podem ser um grande problema e para evitar isso, os pesquisadores podem fazer uso de imunossuppressores para garantir que eles podem garantir que a resposta inicial pode ser atrasada e o tratamento é capaz de agir sobre isso.

O organismo pode ser que este vírus possa criar inserções mutagênicas que levam à formação de leucemia, o que foi observado durante os ensaios clínicos com pacientes que sofrem de SCID-X1 e granulomatosa crônica. Também existem preocupações éticas associadas à terapia gênica, uma vez que altera o que cada um é por natureza. Por isso, é fundamental saber controlar o que é e o que não é o foco desse tipo de tratamento. A terapia gênica, em geral, é mais comumente aceita quando se trata de doenças graves, que podem resultar em morte dependendo do caso específico (GINN,2012).

Outras condições que levam um indivíduo a ser descrito como uma pessoa "socialmente anormal", por exemplo, doença mental, são mais suscetíveis à resistência. Além disso, é fundamental trazer para o primeiro plano o ônus financeiro para o desenvolvimento de terapias gênicas que são caras e, isso, poderia reduzir a proporção da população que tem acesso ao tratamento (GINN,2012).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por intermédio da revisão bibliográfica adimplida nessa coeva pesquisa foi crível intuir que a Geneterapia está abrindo caminhos novos na acepção de tratar patologias acarretadas em virtude de mudanças ocasionais que ocorrem nos genes e doenças previamente contraídas, tais como as doenças virais e aquelas geradas em razão de fatores externos e hábitos alimentares, que os seres humanos permanecem continuamente expostos. As cognominadas “terapias genéticas” têm se comprovado extremamente eficazes no concernente seus resultados alcançados, ainda que sejam evidenciadas extremas dificuldades e restrições.

O sistema CRISPR-Cas9 é, conseqüentemente, uma tecnologia extraordinaríssima em prol do futuro da engenharia genética e para a Geneterapia, contendo a capacidade de revolucionar o universo da ciência enquanto técnica que está ao alcance e que traz a probabilidade de gerar múltiplos e inconcebíveis benefícios em prol da Medicina.

Em alguns casos específicos corroboraram a viabilidade de terapêuticas por Geneterapia em meio à prática clínica, constituindo uma excelente opção quando o enfoque são os indivíduos que expõem defeitos genéticos, distúrbios monogênicos e câncer, principalmente no momento em que os procedimentos farmacológicos ou cirurgias não trazem bons resultados. Por conseguinte, de acordo com a história, a terapia gênica e, de modo inclusivo, a descoberta dos antibióticos e quimioterápicos trazem bons resultados. De modo a agregar, existem novas técnicas as quais necessitam de um número maior de estudos pré-clínicos e lucidatórios. No futuro, existe o compromisso da implementação supramencionadas tecnologias em distintos campos da Medicina e uma maior percentagem de estudos clínicos.

REFERÊNCIAS

- AMER, M. H. **Gene therapy for cancer: present status and future perspective.** *Molecular and Cellular Therapies, Shanghai*, v.2, n.7, ago, 2014.
- AN P; WINKLER C A. Host genes associated with HIV/AIDS: advances in gene discovery. **Trends Genetics.** Inglaterra, v.26, n.3, p.119-131, Fev. 2010.
- ARAÚJO, L H et al.. Câncer de pulmão no Brasil. **Jornal Brasileiro de Pneumologia.** Rio de Janeiro, v.44, n.1, p 55-64, Jul. 2018
- ARONIN, N.; DIFIGLIA, M. Huntingtin-lowering strategies in Huntington's disease: antisense oligonucleotides, small RNAs, and gene editing. **Mov Disord**, v. 29, n. 11, p. 1455- 61, Sep 15 2014.
- BERNAL, C.P.J. et al. **Biología sintética: aplicaciones y dilemas éticos.** III Congreso Internacional de la REDBIOÉTICA UNESCO para América Latina y el Caribe Bioética en un continente de exclusión: de la reflexión a la acción. Colômbia, Nov. 2010.
- BOCH, J. et al. **Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors.** *Science.* New York, v. 326, n. 5959, p. 1509-12, Dez. 2009.
- CARLSON, D. F. et al. **Efficient TALEN-mediated gene knockout in livestock.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. United States*, v. 109, n. 43, p. 17382-17387, Out. 2012.
- CASTILLO-GONZÁLEZ D. Hemofilia: aspectos históricos y genéticos. *Revista Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia.* **Ciudad del Habana**, v. 28, n. 1, p.22-33. Jan/Mar, 2012.
- CASTRIGNANO, S. **.Enzimas em Biologia Molecular III.** CRISPR- Cas9. Instituto Adolfo Lutz, v. 2017, n. 27, 2017.
- CERMAK, T. et al.**Efficient design and assembly of custom TALEN and other TAL effector-based constructs for DNA targeting.***Nucleic acids research, England*, v.39, n. 12, p. e82, abr. 2011.
- COX, D. B.; PLATT, R. J.; ZHANG, F. Therapeutic genome editing: prospects and challenges. **Nature medicine.***United States*, v. 21, n. 2, p. 121-31, Feb. 2015.
- DOUDNA J.A., CHARPENTIER E. Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science, New York*, v.28, n.346, p.6213, Nov. 2014.
- FÉCCHIO D. C.; MACEDO L.C.;RICCI G. C. L. O uso da terapia gênica no tratamento de doenças. **Revista UNINGÁ.** Paraná, v.21, n.1, p.44-49. Jan/ Mar. 2015.

FÉCCHIO, Dânia Caroline; Macedo, Luciana Conci; Ricci, Gléia c. Laverde. O uso da terapia gênica no tratamento de doenças. **Revista uningá review**, [s.l.], v. 21, n. 1, jan. 2018.

GARCÍA-CHÁVEZ J; MAJLUF-CRUZ A. Hemofilia. **Gaceta Médica de México**. México, v. 149, n. 3, p. 308-321, Mai/Jun, 2013.

GINN Samantha L.. Gene therapy clinical trials worldwide to 2012 – an update; THE JOURNAL OF GENE MEDICINE.S M Selkirk; Gene therapy in clinical medicine, 2012.

GONÇALVES, Giulliana A. R.; PAIVA, R.M.A. **Terapia gênica: avanços, desafios e perspectivas**: Gene therapy: advances, challenges and perspectives. 2017.

GRANDE F et al. CCR5/CXCR4 Dual Antagonism for the Improvement of HIV Infection Therapy. **Molecules** v.24, n.3, p.550, Fev. 2019.

HORAVA S D; PEPPAS N A. **Recent advances in hemophilia B therapy. Drug Delivery and Translational Research**. Espanha,v.7, n.3, p. 359-371, jun. 2017.

KANDAVELOU, K. et al. . Targeted manipulation of mammalian genomes using designed zinc finger nucleases. **Biochemical and Biophysics Research Communications**, San Diego, v. 388, n. 1, p. 56-61, 2009.

KHAN, Suliman et al. Role of Recombinant DNA Technology to Improve Life. **International Journal Of Genomics**, [s.l.], v. 2016, p.1-14, 2016.

KENNEDY E. M., CULLEN B.R. **Gene editing**: a new tool for viral disease. Annual Review of Medicine, United States, v.68, p.401-411, Jan.2017.

KIM, S. et al. Preassembled zinc-finger arrays for rapid construction of ZFNs. **Nature Methods**, New York, v. 8, p. 7, 2011.

JINEK, M.et al.Structures of Cas9 endonucleases reveal RNA-mediated conformational activation. **Science. United States** v. 343, n. 6176, p. 1247997, Mar 14 2014

JOUNG, J. K.; SANDER, J. D. TALENs: a widely applicable technology for targeted genome editing. **Nature reviews. Molecular cell biology, England**. v. 14, n. 1, p. 49-55, Jan 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.31-69, 2010.

LISTIK, E.; CARMO, A. C. V. As Características dos Mecanismos e Sistemas de Edição Genômica. **Revista Acadêmica Oswaldo Cruz**. São Paulo, v.3, n.10,p. 2357- 8173. Abr/Jun, 2016.

MARTINEZ-SANCHEZ, L. M. et al . Hemofilia: abordaje diagnóstico y terapéutico. **Revista Faculdade Nacional de Salud Pública**, Medellín , v. 36, n. 2, p. 85-93, Mai/Ago, 2018.

MUNDO-AYALA J N, JALOMA-CRUZ A. Evaluación del patrón de inactivación del cromosoma X en portadoras sintomáticas y mujeres con hemofilia. **Gaceta Médica México** . México, v.144, n.2, p 171-174, Nov 2008.

VENTURA, Armando Morais. 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

MISRA, S. **Human gene therapy**: a brief overview of the genetic revolution. The Journal of the Association of Physicians of India, Bombay, v. 61, n.2, p.127-133, Fev.2013.

PÁJARO C N, OLIVERO V J, REDONDO P J. **Nanotecnología aplicada a la medicina**. Revista Científica Guillermo de Ockham.Colômbia, v.11 n.1 p. 125-133, Jan/ jun. 2013.

PATIL PM, Chaudhari PD, Megha S, Duragkar NJ. Review article on gene therapy. **International Journal of Genetics**. 2012; 4 (1):74-79.

PEREIRA, J. M. C .L. A. **Terapia genética: Métodos e aplicações**. 2015.Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Porto, 2015.

PÉREZ-LÓPEZ, J. Terapia gênica en eltratamiento de los errores congénitos del metabolismo. **Medicina clinica**,2013.

PIERCE, B. A . **Genética: um enfoque conceitual** (3 ed.). Rio de Janeiro, R. J.: Guanabara Koogan, 2011.

REIS, A. et al. New England Biolabs, inc. CRISPR/Cas9 and Targeted Genome Editing: A New Era in Molecular Biology, **New England**, 2014.

RODRIGUES, W P. Câncer de pulmão suas consequências na qualidade de vida. **Revista Saúde em Foco**. Edição nº 10, Bahia, 2018.

TEBAS, P. et al. Gene editing of CCR5 in autologous CD4 T cells of persons infected with HIV. **The New England journal of medicine**, Boston, v.370, n. 10, p. 901-910, Mar.2014.

VASCONCELOS, M. J. V.; FIGUEIREDO, J. E. F. **Edição de Genoma com nuclease "Zinc Finger"**.21º edição, 2016.

VERMA, Inder M.; WEITZMAN, Matthew D.. GENE THERAPY: Twenty-First Century Medicine. Annual **Review of Biochemistry**, [s.l.], v. 74, n. 1, p.711-738, jun. 2005.

VIEIRA, V. S. et al. **Câncer de Pulmão de não pequenas células. Enciclopédia Biosfera- Centro científico conhecer.** Goiânia,v.14 n.25, p 1512, Jun. 2017.

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