



UNIDADE DE ENSINO SUPERIOR DE FEIRA DE SANTANA

ANA ELIZABETE LIMA RAMOS DA SILVA

LAURA BEATRIZ PEREIRA DE SANTANA

MARIANA FERREIRA DA CUNHA SILVA

**A EDIÇÃO GENÉTICA E OS ASPECTOS ÉTICOS ENVOLVIDOS NA
MANIPULAÇÃO DE EMBRIÕES HUMANOS**

**FEIRA DE SANTANA
2021**

ANA ELIZABETE LIMA RAMOS DA SILVA
LAURA BEATRIZ PEREIRA DE SANTANA
MARIANA FERREIRA DA CUNHA SILVA

A EDIÇÃO GENÉTICA E OS ASPECTOS ÉTICOS ENVOLVIDOS NA
MANIPULAÇÃO DE EMBRIÕES HUMANOS
GENETIC EDITING AND ETHICAL ASPECTS INVOLVED IN THE
HANDLING OF HUMAN EMBRYOS

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Biomedicina
da Faculdade Unidade de Ensino
Superior de Feira de Santana (UNEF),
como requisito obrigatório para obtenção
do título de bacharelado em Biomedicina.

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Ana Carolina
Santana de Oliveira

Coorientador (a): MSc. Fernanda Souza
Peruzzato

FOLHA DE APROVAÇÃO

ANA ELIZABETE LIMA RAMOS DA SILVA

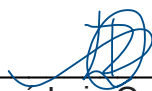
LAURA BEATRIZ PEREIRA DE SANTANA

MARIANA FERREIRA DA CUNHA SILVA

A EDIÇÃO GENÉTICA E OS ASPECTOS ÉTICOS ENVOLVIDOS NA MANIPULAÇÃO DE EMBRIÕES HUMANOS

Feira de Santana, 19\07\2021.

Banca Examinadora



Prof. José Luiz Carneiro da Rocha
Unidade de Ensino Superior de Feira de Santana
Coordenador da Disciplina de TCC2



Profa. Drª. Ana Carolina Santana de Oliveira
Unidade de Ensino Superior de Feira de Santana
Orientador



Drª. Ana Beatriz Zavan Marques
Examinadora

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	6
2. MÉTODOS.....	10
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	11
3.1 CONCEITO DE EDIÇÃO GENÉTICA.....	11
3.1.1 PRINCIPAIS TÉCNICAS DE EDIÇÃO GENÉTICA.....	13
3.1.1.1 ASPECTOS ÉTICOS DA EDIÇÃO GENÉTICA DE MATERIAL HUMANO PELA TÉCNICA CRISPR/CAS9.....	16
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	19
REFERÊNCIAS.....	20

A edição genética e os aspectos éticos envolvidos na manipulação de embriões humanos a partir da técnica CRISPR/Cas9

Genetic editing and ethical aspects involved in the manipulation of human embryos using the CRISPR/Cas9 technique

Ana Elizabete Lima Ramos da Silva¹ Laura Beatriz Pereira de Santana² Mariana Ferreira da Cunha Silva³ Ana Carolina Santana de Oliveira⁴

RESUMO

A presente Revisão Narrativa de Literatura de caráter exploratório e abordagem qualitativa, realizada a partir de pesquisa bibliográfica de trabalhos científicos da Genética e da Bioética, teve como objetivo geral, discutir a edição genética e os aspectos éticos envolvidos na manipulação de embriões humanos a partir da técnica CRISPR/CAS9, indicando o “estado da arte” e as perspectivas futuras, à luz dos aspectos tecnológicos e éticos. Os objetivos específicos foram: abordar os conceitos de edição genética; refletir acerca das técnicas de edição genética: Meganucleases; *Zinc-Finger Nucleases (ZFNs)*; *Transcription Activator-Like Effector Nucleases (TALENs)* e a *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR/Cas9)* e por último apontar os aspectos éticos envolvidos na edição genética de embriões humanos. A pesquisa possibilitou o entendimento, que embora a manipulação genética representa importante avanço científico pelos benefícios que pode trazer para as Ciências, essencialmente para a Medicina, há a preocupação por parte da comunidade científica, em relação a não observância dos princípios da Bioética e que futuramente, a mesma seja utilizada com objetivos eugênicos. Conclui-se que, já que a edição genética pela CRISPR/CAS9 é uma realidade, que sejam considerados os limites éticos para a sua execução, sem que haja prejuízos para as pesquisas e, que seus resultados sejam devidamente analisados e aplicados para melhoria no atendimento à saúde humana, bem-estar e qualidade de vida dos indivíduos e dos ambientes. Registra-se a necessidade de um debate ético, envolvendo a sociedade civil e a comunidade científica internacional de forma esclarecer a edição genética de embriões humanos.

Palavras- chaves: Bioética. Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR/Cas9). Edição Genética. Genoma. Meganucleases. Transcription Activator-Like Effector Nucleases (TALENs). Zinc-Finger Nucleases (ZFNs).

¹ Unidade de Ensino Superior de Feira de Santana (UNEF), acadêmica do curso de Biomedicina. E-mail: anaelizabete17.06@gmail.com.

² Unidade de Ensino Superior de Feira de Santana (UNEF), acadêmica do curso de Biomedicina. E-mail: laurabibia@gmail.com.

³ Unidade de Ensino Superior de Feira de Santana (UNEF), acadêmica do curso de Biomedicina. E-mail: mfcsilva20@gmail.com

⁴ Unidade de Ensino Superior de Feira de Santana (UNEF), docente do curso de Biomedicina. E-mail: anasantanoli@gmail.com

Endereço para correspondência: Laura Beatriz Pereira de Santana. Rua Dois de Julho, 103, Centro, Terra Nova, Bahia. CEP: 42.270-000.

ABSTRACT

The present Narrative Review of Literature with an exploratory character and a qualitative approach, carried out from a bibliographical research of scientific works in Genetics and Bioethics, had as general objective to discuss the genetic editing and the ethical aspects involved in the manipulation of human embryos from the CRISPR/CAS9 technique, indicating the “state of the art” and future perspectives, in light of technological and ethical aspects. The specific objectives were: to address the concepts of genetic editing; reflect on genetic editing techniques: Meganucleases; Zinc-Finger Nucleases (ZFNs); Transcription Activator-Like Effector Nucleases (TALENs) and Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR/Cas9) and finally to point out the ethical aspects involved in the genetic editing of human embryos. The research made it possible to understand that although genetic manipulation represents an important scientific advance due to the benefits it can bring to Science, essentially to Medicine, there is concern on the part of the scientific community in relation to non-compliance with the principles of Bioethics and that in the future, it is used for eugenic purposes. It is concluded that, since genetic editing by CRISPR/CAS9 is a reality, the ethical limits for its execution should be considered, without prejudice to research, and that its results are properly analyzed and applied to improve care human health, well-being and quality of life of individuals and environments. There is a need for an ethical debate, involving civil society and the international scientific community in order to clarify the genetic editing of human embryos.

Keywords: Bioethics. Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR/CAS9). Genetic Editing. Genome.

1. INTRODUÇÃO

As discussões acerca da edição genética que se intensificaram a partir dos anos 2000 com a clonagem da ovelha Dolly, constitui-se na atualidade, um dos temas mais discutidos por cientistas de diversos campos das Ciências. Acredita-se que o interesse pela temática, deva-se em primeiro lugar, aos avanços das tecnologias que facilitaram o surgimento de novas técnicas para a realização dos procedimentos, e aos resultados das recentes pesquisas que mostram as suas aplicações, seja na fabricação de remédios para o trato de doenças graves, quanto no aprimoramento de terapias genéticas e celulares, na pesquisa Biomédica de base, na agropecuária e, também pelas Ciências Ambientais.

Na Medicina, discute-se a utilização da edição genética, em pelo menos nove áreas, a exemplo da Infectologia, Oncologia e transplante de órgãos. No que diz respeito às Ciências Ambientais, pode ser utilizada no melhoramento genético de alimentos, no sentido de aperfeiçoar a qualidade dos mesmos, e ainda tornar os

vegetais resistentes às pragas que prejudicam a plantação. Além das aplicações descritas, a edição pode ser utilizada também, para personificar características humanas para fins extra terapêuticos de melhoramento¹.

A edição genética é um procedimento que proporciona a introdução, eliminação ou substituição de uma molécula de ácido desoxirribonucleico (DNA) no genoma de um indivíduo, se valendo para tanto de enzimas nucleases conhecidas como “tesouras moleculares”. O procedimento ocorre através da utilização dessas enzimas para quebrar, em locais pré-determinados, a cadeia dupla que compõe o DNA. As quebras podem ser reparadas por mecanismos de união de extremos não homólogos ou mediante reparação dirigida por homólogos, dando lugar a mutações controladas.²

O processo de edição genética ocorre em duas etapas: a primeira consiste no reconhecimento e clivagem do DNA e a segunda, no reparo da molécula. Para fazer a edição genética, utiliza-se quatro técnicas ou ferramentas: a) meganucleases; b) Zinc-Finger Nucleases (ZFNs); c) Transcription Activator-Like Effector Nucleases (TALENs); d) Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR/Cas9). Vale destacar, que tais ferramentas apresentam dispositivos que lhes permitem “reconhecer” e aderir às sequências específicas de nucleotídeos do DNA-alvo, e dispositivos “de clivagem”, que admitem seccionar os nucleotídeos do DNA-alvo.¹

No que diz respeito à edição genética de embriões humanos, vale ressaltar, que com os avanços da Medicina Genética, esta deixou de ser um assunto com embasamento futurista para se tornar uma realidade. Segundo as recentes pesquisas, apesar de já ser possível considerar que o homem é capaz de interferir na natureza humana ao manipular geneticamente o genoma de um embrião, ainda há muitos estudos a serem realizados, para que se tenha real dimensão das consequências da manipulação, que a depender do objetivo e da observância dos aspectos éticos que envolvem o procedimento, podem ser benéficas ou maléficas³.

Quanto às reflexões acerca dos aspectos éticos da edição genética com material humano, é importante esclarecer, que apesar de já serem discutidos desde o início dos anos 2000, ganharam destaque quando em 2015, o pesquisador chinês He Jiankui biofísico da Universidade de Ciência e Tecnologia do Sul da China (Southern University of Science and Technology), em um evento público, chocou a sociedade científica e o mundo, ao afirmar que manipulou o genoma de dois

embriões humanos. Ele explicou que o seu experimento tinha como objetivo, corrigir alterações no gene *HBB*, codificador da proteína Beta globulina 1, que compõe as hemoglobinas. Vale esclarecer que mutação no *HBB*, refere-se à doença beta-talassemia. O repúdio ao experimento, fez com que a comunidade científica refletisse acerca dos limites à conduta ética na edição de material genético humano, para que o ocorrido não viesse a ser repetido, pois essa intervenção ainda não inspirava confiança¹⁻⁴.

Atualmente a técnica mais utilizada por pesquisadores na edição genética é a CRISPR/Cas9. Desenvolvido a partir de mecanismos moleculares do sistema imunológico bacteriano, onde o sistema CRISPR possibilita a edição do genoma através de clivagem do DNA por uma endonuclease (Cas9), guiada a partir de uma sequência de, RNA guia, que é capaz de se parear com as bases de uma sequência-alvo. O sistema CRISPR é baseado no sistema imune de bactérias ao ataque viral, onde são utilizados fragmentos de RNA, utilizados para “cortes” de sequências específicas no DNA, de maneira que repare e insira o gene novamente⁵.

Apesar dos inúmeros benefícios advindos da edição genética já citados anteriormente, é extremamente importante pensar também nos riscos que poderão surgir com o aprimoramento das técnicas utilizadas, como por exemplo, o aparecimento de anomalias genéticas ou afecções e ainda, que seja utilizada como ferramenta para promover a eugenia. Por isso, torna-se necessário impor limites éticos à comunidade científica que lida com as técnicas de edição genética principalmente de material genético humano⁶. A manipulação de genomas constitui-se atualmente um grande desafio para os cientistas que prezam pela Bioética, que tem como princípios a maleficência, beneficência, autonomia e justiça.

Vale ressaltar, que a Bioética norteia práticas que lidam diretamente com a vida, estabelecendo um equilíbrio que estimula a maneira de efetuar as condutas, com competência e responsabilidade, visando diversos pontos de vista sobre dilemas morais, sociais e científicos⁷. Ante o exposto questiona-se: no contexto da edição genética em embriões usando a técnica CRISPR/Cas9, quais aspectos éticos devem ser observados?

O estudo teve como objetivo discutir a edição genética e os aspectos éticos envolvidos na manipulação de embriões humanos a partir da técnica CRISPR-CAS9, indicando o “estado da arte” e as perspectivas futuras, à luz dos aspectos tecnológicos e éticos. O objetivo foi: abordar os conceitos de edição genética; refletir

acerca das técnicas de edição genética: *Meganucleases*; *Zinc-Finger Nucleases (ZFNs)*; *Transcription Activator-Like Effector Nucleases (TALENs)* e a *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR/Cas9)* e por último apontar os aspectos éticos envolvidos na edição genética de embriões humanos.

2. MÉTODOS

No que diz respeito à metodologia adotada, este estudo classifica-se como uma revisão narrativa de literatura de caráter exploratório. Para tanto, foram realizadas leituras e buscas eletrônicas, por artigos em Português e Inglês, em banco de dados online, a exemplo, da Biblioteca Científica Eletrônica Online (SciELO), Bireme; Pubmed. A seleção dos trabalhos começou em agosto de 2020 e se estendeu até fevereiro de 2021. Nas buscas foram utilizadas as seguintes palavras-chave: Bioética; Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR-Cas9); Edição Genética; Genoma; Meganucleases; Transcription Activator-Like Effector Nucleases (TALENs) e Zinc-Finger Nucleases (ZFNs).

A pesquisa caracteriza-se como exploratória, pois o intuito foi ampliar o conhecimento acerca das práticas de edição genética em embriões humanos, com ênfase na técnica CRISPR/Cas9. Para isso, a reflexão foi em torno dos conceitos de edição genética e dos aspectos éticos das técnicas mais utilizadas pelos cientistas e pesquisadores da temática. Quanto à forma de abordagem do problema, como não houve a necessidade de emprego de dados estatísticos e nem de quantificação, enquadra-se no rol das pesquisas qualitativas, que busca analisar e interpretar aspectos subjetivos de um fenômeno que não podem ser medidos nem mensurados.

Do ponto de vista dos procedimentos técnicos, foram utilizados para este estudo, os procedimentos de pesquisa bibliográfica⁸. A pesquisa bibliográfica pode ser conceituada como sendo a análise mais apurada, de forma sistemática desenvolvida com base no que já foram publicadas, seja em livros, revistas, jornais, redes eletrônicas etc., que tratam de determinado tema⁹. Foi definido como critério de elegibilidade para inclusão dos trabalhos: artigos de revisão, teses e monografias nos idiomas acima citados.

As referências dos artigos selecionados foram verificadas com a finalidade de identificar outros artigos que atendessem aos critérios de inclusão e que não houvessem sido localizados nas bases de dados consultadas. Após a seleção dos artigos conforme os critérios de elegibilidade previamente definidos, foram seguidos os seguintes passos: leitura exploratória, leitura seletiva e escolha do material que contemplasse os objetivos deste estudo, análise dos textos e, por último, a realização de leitura interpretativa e redação.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

Não seria possível compreender os aspectos éticos envolvidos na edição genética de embriões humanos, sem que antes fossem apresentados e esclarecidos os significados de expressões, termos e palavras importantes para a compreensão do objeto de estudo como genoma, genes e edição ou manipulação genética. Acredita-se que fazer tais apresentações é fundamental para o entendimento, que o procedimento não é uma prática nova e não se trata de uma obra de ficção, mas, de uma realidade da sociedade científica atual, essencial para o desenvolvimento das Ciências principalmente da Medicina Humana¹.

3.1 Conceitos de Edição Genética

Não haveria como propor uma discussão sobre a edição genética e nem discutir os aspectos fundamentais para a realização do processo de manipulação ou edição genética de embriões humanos, sem que antes fossem apresentados os conceitos de genoma e genes. O genoma é toda informação hereditária. Os genes são as unidades funcionais que compõem o genoma. São a unidade física e funcional fundamental da hereditariedade. Trata-se de uma sequência ordenada de nucleotídeos localizada em uma posição particular em um cromossomo que codifica um produto funcional específico, isto é, uma proteína ou molécula de RNA¹⁰⁻¹⁶.

A edição genética pode ser definida como sendo um procedimento em que trechos específicos do DNA, são suprimidos e substituídos por novas sequências de genes, podendo ser comparada a metáfora da reescrita de um texto, onde letras são apagadas para que outras sejam reescritas. “Pode-se editar o DNA de todo genoma de seres vivos com finalidades diversas: para tratar doenças, criar alimentos transgênicos, melhorar características humanas não patológicas, entre outras finalidades”¹.

A edição genética consiste no aperfeiçoamento por meio de correções em partes específicas do gene, com o intuito terapêutico. A manipulação genética tornou-se possível por mérito dos avanços na história da Biologia Molecular ao longo dos anos e tem como contexto predominante, o âmbito laboratorial, sendo fundamentada em pesquisas ainda com aplicações experimentais¹¹.

Vale ressaltar que o conhecimento da estrutura do DNA foi fundamental para o

desenvolvimento de pesquisas e estudos relacionados à edição genética, prática científica muito importante para as Ciências e para o futuro das próximas gerações, que começou a ser desenvolvida por volta dos anos de 1950. A técnica possibilitou aos cientistas, confirmar que os aspectos hereditários se situavam no núcleo celular. A partir de então, surgiram novas ideias sobre a estrutura do DNA e o mundo científico fez grandes progressos, que se intensificaram após os estudos de Erwin Chargaff (1905-1995) e Rosalind Franklin (1920-1958)¹².

Dando continuidade aos estudos e as novas descobertas sobre o DNA, em 1953, James Dewey Watson (1928 ~) e Francis Harry Compton Crick (1916-2004), apresentaram um modelo coerente para o DNA, tomando como base estudos anteriores principalmente, os que foram realizados por E. Chargaff e Rosalind Franklin. Esse evento impulsionou ainda mais a pesquisa científica a nível molecular, o que foi benéfico à evolução de base genética com relação à terapiagênica.¹³

Quanto aos avanços das pesquisas em edição genética, ressalta-se que apesar de já haver vários protocolos estabelecidos pela comunidade científica para a sua realização, deve-se considerar que é um processo complexo, que ainda necessita de aperfeiçoamento, muitos estudos e frequentes pesquisas. O que se sabe, é que a Engenharia Genética é capaz de manipular o código genético de uma molécula de DNA, ou seja, alterar a estrutura genética dos seres vivos. Trata-se de uma alteração artificial, total ou parcial, do genoma de determinada célula, que ocorre por adição, substituição ou supressão de genes.¹⁻¹²⁻¹⁴

O processo de edição ocorre em duas fases principais: primeiro reconhecimento e clivagem do DNA e, em seguida, reparo da molécula e há dois principais meios de reparo: ligação de extremidades não homólogas (*non-homologous end joining* – NHEJ); e reparo dirigido por homologia (*homology-directed repair*– HDR). O mecanismo NHEJ religa as extremidades do trecho clivado da molécula de DNA e é considerado útil quando se busca silenciar a ação de genes. Como exemplo, pode silenciar o gene causador da doença de Huntington ou do gene codificador de receptores em que o HIV se acopla ao invadir as células do organismo¹.

Já o mecanismo (HDR), utiliza moldes (*templates*) para regenerar quebras de dupla fita, e os cientistas podem inserir nas células moldes de DNA externo junto com as ferramentas de edição. Os moldes externos contêm genes selecionados, fornecendo então a matriz do novo segmento de DNA a ser criado no local da

clivagem¹. Através dos conceitos de edição genética, no tópico a seguir, podem-se desenvolver as principais técnicas utilizadas pelos cientistas para manipular genoma humano.

3.1.1 Principais técnicas de edição genética

Com os avanços da Biologia Molecular e da Engenharia da Genética, foram desenvolvidos e criados vários métodos ou técnicas de edição ou manipulação genética. A pioneira foi a Zinc Finger Nucleases (ZFNs), conhecida como Nucleases Dedo de Zinco. Com o passar do tempo e visando corrigir a ZFNs, foram criadas a *Transcription Activator-like effector-Based Nucleases* (TALENs) e a *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* (CRISPR/Cas9)¹⁵.

A técnica conhecida como Nucleases Dedo de Zinco, existentes em células eucariotas, apoia-se na utilização de proteínas quiméricas combinadas com domínio de endonucleases de restrição da enzima FOLK, originadas da bactéria *Flavobacterium okeanoikoites*, com o objetivo de reconhecer e separar (clivar) a sequência de DNA em locais específicos do genoma, a fim de corrigir genes defeituosos e inserir genes em locais de quebra específicos. As ZFNs, podem ser inseridas em células ou embriões, como construções de DNA ou RNA, e como uma proteína, por meio de microinjeção, infecção, transfecção ou eletroporação¹⁶.

Outra técnica utilizada pelos manipuladores de materiais genéticos é a *Transcription Activator-like effector-Based Nucleasse*. A TALENs caracteriza-se como um método de edição genômica e tem como principal elemento a proteína TALENs, oriunda da bactéria patogênica de plantas *Xanthomonas* ou *Ralstonia*, que se liga ao local específico do DNA. As TALENs quando inseridas nas células do organismo hospedeiro através do sistema de secreção, unem-se ao DNA genômico e modificam a transcrição da célula hospedeira, promovendo assim a colonização pelas bactérias patogênicas¹⁶.

É de suma importância destacar que as TALENs se equiparam a ZFN. Ambas utilizam nucleases não específicas FOKL combinadas com o domínio de DNA, localizando o alvo específico fazendo reparos ou causando mudança na sequência de DNA ou RNA, que pode ser benéfica, maléfica ou neutra. Nesse processo, podem ocorrer mutações no material genético da mesma maneira¹⁵.

A função patogênica de TALENs em plantas chamou a atenção dos cientistas,

e sua forma simples de ligação no DNA e a facilidade de engenharia foram determinantes para a sua utilização como fatores artificiais de transcrição e nucleases. Resultados aplicados dessa técnica levaram muitos anos para serem descritos em diferentes linhas de pesquisa e só agora os avanços vem sendo aplicados como rotina nos laboratórios tanto acadêmicos como industriais. É um método fácil de executar, sendo amplamente usado para estudar funções de genes numa infinidade de organismos, incluindo leveduras, plantas, algas, protozoários, nematoides, peixes, insetos, mamíferos e células humanas.¹⁶

A técnica mais recente de edição genética e a que vem causando polêmicas entre a comunidade científica e os defensores da Bioética, é a *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*, conhecida mundialmente como a CRISPR/Cas9. O sistema desenvolveu-se a partir do mecanismo molecular imunológico bacteriano e consiste na edição do genoma por corte de DNA sob a orientação de uma sequência de RNA por endonucleases (Cas9), que pode emparelhar com o RNA a sequência alvo. Em sistemas bacterianos, a estrutura genética do CRISPR constitui-se em curtas repetições palindrômicas, que são distribuídas regularmente⁵.

Esta técnica foi retratada pela primeira vez em meados dos anos de 1980, pela professora Emmanuelle Charpentier, da Hannover Medical School, na Alemanha, e por sua colega de trabalho Jennifer Doudna, da universidade de Berkeley na Califórnia, que foi a co-descobridora do processo de edição genética. Porém apenas em 2013, Feng Zhang do MIT e do BroadInstitute, conseguiu fazer com que CRISPR trabalhasse em células humanas, e com isso recebeu a primeira patente norte americana sobre a técnica.¹⁷

Os estudos realizados até então, demonstram que a CRISPR/Cas9 é uma técnica que tem um potencial muito grande a ser explorado, devido a ser um método muito preciso, eficiente e possui um custo muitas vezes menor, em comparação as outras técnicas. Com a nova tecnologia, os locais de atuação consistem basicamente em diversas repetições diretas, separadas por extensões de sequências variadas, chamadas de espaçadores, que correspondem principalmente ao seguimento de sequências virais e plasmídicas frequentemente adjacentes a genes CAS, os quais podem codificar uma família de proteínas que apresentam domínios funcionais típicos de nucleases, helicases, polimerases e proteínas de ligação a polinucleotídeos. Estas proteínas atuam no processo e são as

responsáveis pela precisão do método¹⁷.

As sequências repetitivas e regiões espaçadoras, durante a transcrição formam o RNA transativador, que pode direcionar a enzima Cas9. Usando esta estratégia, a cAS9 e o RNA guia, podem ser inseridos *in vitro* e direcionados em locais na célula, onde podem causar recortes na fita dupla. Terminado esse corte, são utilizados mecanismos moleculares internos do organismo responsáveis por corrigir os erros do genoma. Com isso, a técnica CRISPR/Cas9 pode ser utilizada para reparar mutações, ou introduzir novos genes, utilizando o método de nocaute de genes⁵.

A CRISPR/Cas9 tem a possibilidade de adicionar um novo trecho por meio do corte da fita de DNA ou também na troca de uma letra da fita sem haver cortes, alterando o gene defeituoso. Assim, seria possível a cura de diversas patologias. No entanto, apesar da facilidade na aplicação, alguns cientistas publicaram na Revista Científica “Nature” uma solicitação de uma moratória global para mais estudos na manipulação genética em embriões, óvulos e espermatozoides, como relata o Presidente da Aliança para a Medicina Regenerativa, Edawrd Lanphier, “que os seres humanos são espécies únicas na natureza e com isso, é preciso que haja ampla discussão e reflexão”⁴.

A CRISPR/Cas9 provou ser uma técnica renovadora na pesquisa emergente e na Medicina Genética tem grande potencial. Levando em consideração a tecnologia de edição de genes, sua precisão na leitura e edição de genomas a baixo custo, pode resolver problemas genéticos de longa data e evitar o aparecimento dos mesmos. Por este motivo, esta tecnologia tem múltiplas possibilidades para resolver disfunções ou problemas genéticos, antes irreversíveis¹⁸.

A CRISPR-CAS9 tem aplicações clínicas intrigantes como o tratamento de disfunções genéticas, como a Fibrose Cística (FC) e a Distrofia Muscular de Duchenne (DMD). Além disso, podem auxiliar na terapia de hemoglobinopatias, o que futuramente permitirá inserir em pacientes falcêmicos e talassêmicos hemoglobina fetal que será expressa no indivíduo com hemoglobina adulta normal.¹² No entanto, os inúmeros riscos relacionados à possibilidade de “erros” são preocupantes, principalmente do ponto de vista da ética e, portanto, do controle legal da mesma em escala global.⁶

Vale ressaltar que por ser uma técnica de fácil manejo e muito acessível, para a sua manipulação, se fazem necessários maiores estudos e regulamentações. Para

os pesquisadores preocupados com os aspectos éticos na manipulação genética de embriões humanos, é preciso limitar sua utilização como forma de assegurar a sociedade e compreender quais são as possíveis consequências, além de prevenir seu uso discriminatório. No tópico a seguir a reflexão será em torno dos aspectos éticos a serem observados na realização desta técnica.

3.1.1.1 Aspectos éticos da edição genética de material humano pela técnica CRISPR/Cas9

Em meados de 2018, houve a notícia dos primeiros bebês com o genoma editado. O pesquisador He Jiankui da, através da Fertilização in vitro (FIV) e do CRISPR/Cas9, editou os embriões no intuito de desativar o gene CCR5 responsável pela infecção do HIV (vírus da imunodeficiência humana) nas células. Para os estudiosos da época, não havia estudos suficientes para comprovar a ampla eficiência e possíveis causas desta manipulação¹⁸.

A pesquisadora Paula Cannon da Universidade do Sudeste da Califórnia que estuda o HIV, alertou por exemplo, que mesmo desativando a proteína CCR5, o vírus ainda pode infectar o linfócito CD4 por meio da proteína CXCR4. Outros cientistas levantaram a possibilidade da técnica CRISPR/CAS9 acabar atacando, por acaso, trechos de DNA fora da sequência alvo ressaltando a necessidade de se utilizar algoritmos de computador para varrer toda a extensão do material genético submetido aos testes e identificar trechos incorretos que vão acabar danificados ou “deletados” por acidente após a intervenção¹⁹.

Para validar a afirmação acima, estudiosos das universidades de Stanford e Iowa descreveram um teste onde conseguiram corrigir um gene responsável pela cegueira em ratos, porém, surgiram mutações acidentais em nucleotídeos únicos (que contém uma única base nitrogenada) e exclusões ou inserções de maior porte, envolvendo trechos com mais de uma letra. Apontaram ainda outro risco inesperado da técnica de edição de DNA, as mutações que ocorrem em regiões não codificantes, ou seja, fora do alvo desejado. Sendo assim gera preocupação com a terapia gênica, relacionada a sua aplicabilidade terapêutica.¹⁷

Além disso, realizou-se pesquisa com duas famílias que tem e convivem com pessoa que possui deficiência visual e outra com uma doença neurodegenerativa hereditária e autossômica, questionando o que eles achavam da possibilidade de

terem feito a técnica de edição genética. A primeira família é uma criança que possui albinismo e deficiência visual, para os pais se tivessem a possibilidade de corrigir, não faria, porque é isso que a torna especial. Já para a segunda família se houvesse a escolha de retirar o gene que causa a doença neurodegenerativa (Huntington), teriam feito sem hesitar.

O uso da técnica de CRISPR/Cas9 para edição genética de embriões humanos de acordo com Úrsula Matte, professora da Faculdade Federal do Rio Grande do Sul, causou impacto por dois motivos bem relevantes. Primeiro pela simplicidade de construção de vetores para edição quando comparado com as técnicas tradicionais e segundo, pela amplitude de aplicações, que como já observado, vão desde a modificação de bases específicas até a interrupção da função de genes ou a inserção de sequências gênicas inteiras em regiões determinadas do genoma. Por conta disso, seu uso se espalhou de forma rápida, conforme verificado pelo aumento de publicações utilizando essa metodologia²⁰.

A repercussão sobre o caso chinês, levou alguns pesquisadores da área a pedirem uma moratória em relação a essa possibilidade, argumentando que os riscos atuais (relacionados a limitações técnicas) não superam os benefícios. Mais importante, porém, eles argumentam que existem outras alternativas para casais em risco de terem filhos com doenças genéticas, como o diagnóstico pré-implantação, o que reduz em muito a justificativa para esse tipo de procedimento²⁰.

Nesse caso, como nas demais aplicações das técnicas de edição gênica citadas acima, não há um consenso sobre a melhor alternativa a ser adotada e o debate é intenso, inclusive com a modificação de aspectos regulatórios. Porém em todos eles é necessário um maior envolvimento da sociedade na discussão de quais são os limites do que é aceitável, tanto em termos de risco quanto de equidade. E este debate deve ocorrer em nível internacional²⁰.

Além do exposto acima, o uso desta técnica tem sido requerido por diferentes áreas do conhecimento, desde aplicações terapêuticas na saúde humana até melhoramento vegetal e animal passando por controle de vetores. Da mesma forma, suas implicações éticas devem ser avaliadas em todos esses campos. Em primeiro lugar, é preciso ressaltar que, apesar dos bons resultados obtidos, ainda há questões técnicas que devem ser resolvidas antes de uma aplicação mais geral dessa tecnologia – a principal delas relativa aos potenciais sítios de corte inespecíficos (*off target*)²⁰.

Segundo a autora supracitada, enquanto as taxas de ocorrência desses eventos não forem fixadas e demonstrarem níveis aceitáveis, sua aplicação mais generalizada não será possível. Porém, a discussão dos aspectos éticos não deve ser limitada a questões técnicas que serão, em certa medida, solucionadas com o passar do tempo. Sendo assim, é preciso discutir a adequação da sua aplicação considerando o melhor cenário técnico possível, em cada um dos seus campos de aplicação²⁰.

Beny Spira, professor livre-docente do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) da Universidade de São Paulo, lembra que Dr. He desrespeitou a moratória sobre o uso de CRISPR em seres humanos. Na época da moratória sobre a clonagem de genes nos anos 70, havia poucos laboratórios que atuavam na área. Além disso, quase todos localizavam-se em países ocidentais, sendo, portanto, de fácil fiscalização. Já a moratória sobre o CRISPR em 2015, tem de ser aplicada em centenas ou milhares de laboratórios em todos o mundo²¹.

No que diz respeito à questão ética da utilização da edição de genes, o próprio Dr. He afirma que é contrário à cirurgia genética para fins que não o de curar ou prevenir doenças. Ele é contra a manipulação de embriões com objetivos eugênicos, como por exemplo, o melhoramento genético dos descendentes para tornar a aparência física mais compatível com o que é admirado e exigido pela sociedade²¹.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Artigo foi norteado pela seguinte questão: no contexto da edição genética em embriões usando a técnica CRISPR/Cas9, quais aspectos éticos devem ser observados? Constatou-se ao longo da pesquisa que a edição ou manipulação genética representa um grande avanço para as Ciências, principalmente para a Medicina, por conta das suas aplicações na cura de doenças.

Constatou-se também que apesar das aplicações na Medicina, a edição genética é vista com preocupação pela comunidade científica se for realizada com objetivos eugênicos, ou seja, ser utilizada para “tornar” uma raça superior a outra, ou mesmo para modificar a aparência estética e traços estéticos. Por isso, os cientistas recomendam, para que a edição genética a partir da técnica CRISPR/Cas9, seja utilizada amplamente, se faz necessário que respeitem os princípios da Bioética. Caso isso não ocorra, pode-se representar uma ameaça para as gerações futuras.

Ficou evidente a partir da bibliografia consultada, que se os cientistas não agirem com cautela poderá aumentar ainda mais as desigualdades e os preconceitos, ao produzirem seres geneticamente modificados. Para encerrar, conclui-se que a técnica de edição de genes surge como um catalisador de descobertas, principalmente para doenças genéticas hoje incuráveis, mas também provoca uma série de preocupações no campo da Bioética.

Assim sendo, infere-se que não é um assunto que se encerra com este trabalho, pois o tema se encontra em discussão na comunidade científica, onde há diversos grupos de pesquisas interessados na utilização da técnica de CRISPR-CAS9 para o tratamento e cura de várias doenças congênitas. Espera-se que a pesquisa possa servir de referências para estudos posteriores, já que foi percebida a necessidade de maior envolvimento da sociedade na discussão de quais são os limites do que é aceitável na edição genética de embriões humanos, seja em termos de risco, seja quanto a conformidade.

REFERÊNCIAS

1. Furtado RN. Desafios éticos das tecnologias de melhoramento humano. Rev. Bioét. [Internet]. 2019; [acesso 7 out. 2020] 27 (2): 223-33. Disponível em: https://www.marilia.unesp.br/Home/RevistasEletronicas/Kinesis/12_rafaelfurtado.pdf.
2. Bergel SD. O impacto ético das novas tecnologias de edição genéticas. Rev. Bioét. [Impr.]. 2017; [acesso 28 maio 2021] 25 (3): 454-61. Disponível em <https://www.scielo.br/j/bioet/a/sdjql69BjztwzyMJ39rv63K/?format=pdf&lang=pt>.
3. Kovalski AB, Araújo MCP. A história da ciência e a bioética no ensino de genética. Genética na Escola [Internet]. 2013; [acesso 20 out. 2020]. Disponível em: http://san.uri.br/sites/anaais/erebio2013/comunicacao/13414_87_Aline_Bottega_Kovalski.pdf.
4. Sganzerla A, Pessini L. Edição de humanos por meio da técnica do Crispr-Cas9: entusiasmo científico e inquietações éticas. Saúde Debate [internet]. 2020; [acesso em 30 set. 2020] 44, ed.125: 527-40. Disponível em: <https://pt.scribd.com/document/439861020/Rev-Bioetica-v-27-n-2-pdf>.
5. Arend MC, Pereira JO, Markoski MM. O sistema CRISPR/Cas9 e a possibilidade de edição genômica para a Cardiologia. Arq. Bras. Cardiol. [internet]. 2017; [acesso em 3 jun. 2021] 108 (1): 82-3. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abc/a/S7rhCRLnYjVmCDfTrdSYTDs/?lang=pt>.
6. Hupffer HM, Berwig JA. A tecnologia CRISPR-CAS9: da sua compreensão aos desafios éticos, jurídicos e de governança. Pensar Revista de Ciências Jurídicas [internet]. 2019; [acesso em 20 nov. 2020] 1-16. Disponível em: <https://periodicos.unifor.br/rpen/article/view/9722/pdf>.
7. Ossege AL. Bioética e novas fronteiras: mapeamento genético em trabalhadores [dissertation]. Brasília: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília; 2018 [cited 2021 Jun 18]. 137f. Available from: https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/32771/1/2018_AlbyLeiteOssege.pdf.
8. Gil AC. Como elaborar projetos de pesquisa. 6. ed. São Paulo: Atlas; 2010. 192 p.
9. Vergara SC. Projetos e relatórios de pesquisa em Administração. 16. ed. São Paulo: Atlas, 2016, 104 p.
10. Joaquim LM, El-Hanai C. A genética em transformação: crise e revisão do conceito de gene. Scientiae Studia [internet]. 2010; [acesso em 19 nov. 2020] 8 (1): 93-128. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/ss/v8n1/a05v8n1.pdf>.
11. Gonçalves GAR, Paiva RMA. Terapia gênica: avanços, desafios e perspectivas. Einstein [internet]. 2017; [acesso 18 nov. 2020] 15 (3): 369-375. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/eins/v15n3/pt_1679-4508-eins15-03-0369.pdf.
12. Mesquita NAS, Neto JFO, Oliveira AP, Moraes CLB. A dupla hélice do DNA:

história revisitada à luz da epistemologia kuhniana. *Conjectura: Filosofia e Educação* [internet], 2017; [acesso 7 out. 2020] 22 (3): 598-616. Disponível em: <http://www.ucs.br/etc/revistas/index.php/conjectura/article/view/5152/pdf>.

13. Soares HMG. A descoberta da Dupla Hélice do DNA: contributo para possíveis narrativas. *RUN*. [internet], 2016; [acesso 07 out. 2020]. Disponível em: https://run.unl.pt/bitstream/10362/17048/1/Soares_2015.pdf.

14. Pina AP. O genoma humano e as políticas públicas na área da saúde. *Revista de Estudos Jurídicos UNESP* [internet], 2011; [acesso em 30 set. 2020] 15 (22): 221-36. Disponível em: <https://ojs.franca.unesp.br/index.php/estudosjuridicosunesp/article/view/411>.

15. Nabais ATG. Técnicas de edição de genoma como abordagem promissora na terapia gênica. *RC* [internet], 2015; [acesso 18 nov. 2020]. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.26/10973>.

16. Vasconcelos MJV, Figueiredo JDF. Edição de Genoma com Nuclease “Zinc Finger”. [s. l.], 2016. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1059977/edicao-degenoma-com-nuclease-zinc-finger>. Acesso em 23 out. 2020.

17. Caetano GCG, Matos, HOS, Simão, PCR, Duarte, RV, Barreto, SA, Henriques, IS. técnica CRISPR-CAS9 e sua utilização na área laboratorial. *Braz. J. Surg. Clin. Res.* V.25,n2,pp.96-99 (dez 2018 - fev 2019). [Acesso em 7 jul. 2021]. Disponível em: https://www.mastereditora.com.br/periodico/20190103_214255.pdf.

18. Greshko, M. Primeiros bebês com genes editados correm risco de morte prematura. *Nathional Geographic*. [Acesso em 7 jul. 2021] Disponível em: nationalgeographicbrasil.com/2019/06/gene-editado-dna-crispr-china-etica-medicina.

19. Tonelli FCP, Resende RR. CRISPR: a técnica de engenharia genética que pode mudar o mundo! 2016. 3(7). DOI: [Acesso em 7 jul. 2021]. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.15729/nanocellnews.2016.02.26>.

20. Matte, U. Aspectos éticos da edição gênica. *ANAIS DA 71ª REUNIÃO ANUAL DA SBPC – CAMPO GRANDE, MS - JULHO/2019*. [Acesso em 12 jul. 2021]. Disponível em: http://livro.sbpcnet.org.br/71ra/PDFs/arg_6506_640.pdf.

21. Spira, B. Edição genética em humanos: técnica e ética. *Revista Questão de Ciência*. Internet. Jan. 2019. [Acesso em 14 jul. 2021]. Disponível em: <http://revistaquestaodeciencia.com.br/artigo/2019/01/03/edicao-genetica-em-humanos-possibilidade-tecnica-desafio-etico>.

