

# Realidades e perspectivas do uso de terapia gênica no tratamento de doenças

## *Realities and perspectives of the use of gene therapy in the treatment of diseases*

Ana Cláudia Rabelo e Silva<sup>1</sup>, José Barbosa Júnior<sup>2</sup>

### RESUMO

Esse artigo apresenta os fatos mais relevantes sobre a aplicabilidade da terapia gênica em seres humanos. A terapia gênica é uma modalidade terapêutica para doenças genéticas monogênicas, poligênicas e adquiridas. Esse tratamento caracteriza-se por um método de intervenção clínico baseado nas técnicas de engenharia genética, que modifica intencionalmente o genoma de determinadas células do corpo. Essa manipulação gênica ocorre com a finalidade de editar e/ou inserir transgenes para suprir um gene próprio inativo ou disfuncional. Nesse artigo descrevemos o surgimento das primeiras ideias dessa terapia; demonstramos os tipos de intervenções biotecnológicas e alguns instrumentos de transferência de genes através de vetores virais, não virais e o promissor sistema *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/Associated Protein 9* (CRISPR/Cas9); relatamos os principais tipos de doenças passíveis de serem tratadas por esse procedimento e analisamos limitações e possíveis riscos associados ao uso dessa terapia. Concluímos expondo as realidades atuais dos testes clínicos no Brasil e no mundo.

**Palavras-chave:** técnicas de transferência de genes; terapia genética; engenharia genética; serviços em genética; sistemas CRISPR-Cas.

### ABSTRACT

This update presents the most important events regarding the applicability of gene therapy in humans. Gene therapy is a therapeutic modality for single gene or polygenic genetic diseases and acquired diseases. Gene therapy is a clinical intervention method based on genetic engineering techniques, which intentionally modifies the genome of some cells. Gene manipulation occurs with the purpose of editing and/or inserting transgenes to supply an inactive or dysfunctional gene. In this update, we describe the emergence of the first ideas about this therapy, we demonstrate the types of biotechnological interventions and some methods for genes transference through viral and non-viral vectors and the promising CRISPR/Cas9 system. We also report the main types of diseases which can be treated through this procedure and we analyze limitations and possible risks associated with the use of this therapy. We conclude by exposing the current realities of clinical trials in Brazil and in the world.

**Keywords:** gene transfer techniques; genetic therapy; genetic engineering; genetic services; CRISPR-Cas systems.

### INTRODUÇÃO

A atual compreensão do genoma humano permitiu a identificação dos genes e das mutações responsáveis por várias doenças genéticas. Esse entendimento levou os pesquisadores a um questionamento: se o motivo de certas doenças se desenvolverem está em nosso genoma, será que a resposta para seu tratamento também não poderia estar?

Atualmente, apenas algumas das 5 mil doenças humanas genéticas possuem tratamento.<sup>1</sup> Na melhor das hipóteses, quando o tratamento dessas doenças genéticas existe, é realizado na correção de alguns erros inatos do metabolismo, geralmente alcançado por terapia de reposição (que consiste em fornecer ao corpo o produto gênico ausente ou deficiente como, por exemplo, a enzima  $\alpha$ -galactosidase na doença de Fabry) ou através da alteração na alimentação do paciente

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

<sup>2</sup>Universidade José do Rosário Vellano – Belo Horizonte (MG), Brasil.

Autora correspondente: Ana Cláudia Rabelo e Silva – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Departamento de Ginecologia e Obstetrícia – Avenida Bandeirantes, 3.900, 8º andar – Monte Alegre – CEP: 14049-900 – Ribeirão Preto (SP), Brasil – E-mail: rabelo.anaclaudia@gmail.com

Recebido em 31/10/2017. Aceito para publicação em 28/02/2018.

(como ocorre, por exemplo, com portadores de fenilcetonúria, que seguem uma dieta com baixo teor de fenilalanina, proteína que acumula no organismo).<sup>2</sup>

Para a grande maioria das doenças genéticas às quais não é possível aplicar algum desses métodos de tratamento citados, a modificação genética das células *ex vivo*, através da modificação de células humanas em cultura posteriormente transplantadas, será a abordagem mais propícia para um tratamento de sucesso.<sup>3</sup> Nesses casos, as “células geneticamente modificadas poderão ativar mecanismos de defesa naturais do organismo (como o sistema imune) ou produzir moléculas de interesse terapêutico”,<sup>4</sup> melhorando o quadro clínico do paciente. É de interesse dos portadores de qualquer doença genética o desenvolvimento de um método para amenizar ou curar os sintomas advindos de sua enfermidade. Além disso, a terapia gênica também visa tratar doenças adquiridas como câncer, doenças cardiovasculares, infecciosas e epigenéticas que afligem um número elevado de indivíduos.<sup>5</sup>

Uma das propriedades mais importantes do material genético de um indivíduo é permitir a fiel transmissão dos dados do Ácido Desoxirribonucleico (DNA) às células duplicadas. Entretanto, essa estabilidade nem sempre se conserva intacta. Mesmo que a frequência de erros na replicação do DNA seja extremamente pequena, quando ocorrem podem gerar efeitos graves, dependendo do gene afetado. As mutações gênicas alteram ou inativam o desempenho de certos genes, tornando-os incapazes de codificar corretamente a sua respectiva proteína. A mudança de apenas um nucleotídeo na sequência pode resultar em perda da expressão gênica ou produção de uma proteína alterada.<sup>6</sup>

Com base nos conhecimentos sobre o material genético e sobre as mutações gênicas Paul Berg, professor da Universidade de Stanford, dirigiu pesquisas na década de setenta realizando a primeira manipulação de uma molécula de DNA. Esse procedimento ficou conhecido como a Tecnologia do DNA Recombinante, que permite reparar o genoma através de cortes e emendas em seus genes. Diante da descoberta des-

ta metodologia, considerou-se a possibilidade de controlar as alterações no material genético de um organismo, implementando genes terapêuticos para tratar uma enfermidade com baixa percentagem de efeitos *off-target*, surgindo a ideia de terapia gênica.<sup>7</sup>

A terapia gênica consiste em reparar mutações e outras enfermidades por meio da edição e/ou inserção direta do genoma, ao “introduzir em um organismo, com uso de técnicas de DNA recombinante, genes sadios para substituir, manipular ou suplementar genes inativos ou disfuncionais”.<sup>8</sup>

Um gene terapêutico considerado sadio, que foi incorporado em uma célula para tratá-la, é denominado transgene (gene transferido) para diferenciá-lo dos genes próprios. O organismo que recebe essa incorporação do gene terapêutico é chamado transgênico. A terapia gênica é considerada eficiente se o transgene passar a sintetizar o produto gênico — antes deficiente — e conseguir recompor o fenótipo normal do indivíduo.<sup>1</sup>

Ao longo dos anos, a terapia gênica sofreu altos e baixos no seu desenvolvimento. A evolução quanto ao número de ensaios pode ser observada na Figura 1.

## APLICAÇÕES DA TERAPIA GÊNICA

As especulações sobre a aplicação de modificação genética para o tratamento de patologias foram, no princípio, direcionadas exclusivamente para os distúrbios hereditários monogênicos. Devido à ocorrência de alteração em apenas um gene, esses tipos de doenças mostraram-se mais propícios para as aplicações de terapia gênica.<sup>9</sup> Se a transferência de cópias terapêuticas do gene disfuncional ocorrer de modo satisfatório, a expressão do transgene consegue reverter o quadro clínico. Teoricamente, a correção de uma mutação advinda de uma doença monogênica, como a hemofilia ou a fibrose cística, é mais simples de ser realizada, como por meio do instrumento CRISPR/Cas9 na edição de genes,<sup>10</sup> quando comparada com o tratamento de uma doença multifatorial como o câncer.<sup>4,5</sup>

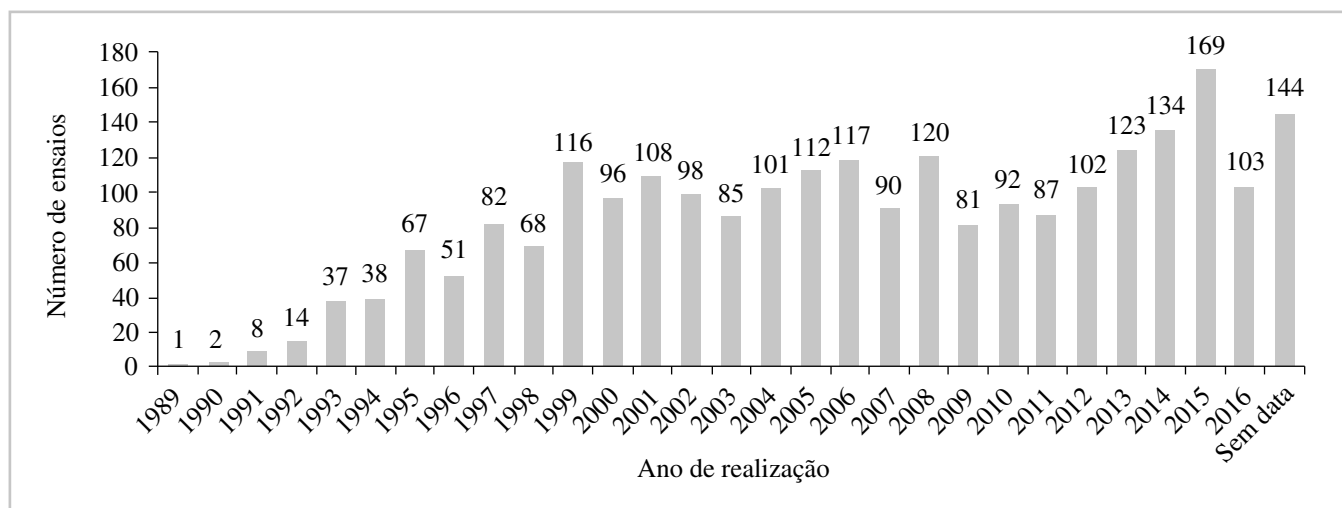


Figura 1. Número de ensaios clínicos de terapia gênica aprovados no mundo inteiro após 1989.

Para realizar o tratamento de doenças monogênicas é necessário, basicamente, que se conheça o gene responsável pela enfermidade e faça a edição e/ou inserção de cópias funcionais do gene para que a correção tenha efeito.<sup>9</sup> Além disso, outro método de reparo para doenças monogênicas é a utilização do sistema CRISPR/Cas9 que, por meio de um ácido ribonucleico (RNA) guia e uma enzima de restrição, identifica e corta pontualmente o DNA no gene de interesse e o próprio sistema celular de reparo do DNA é ativado para corrigir a mutação, podendo também ser inseridos ou deletados alguns nucleotídeos para reparar a mutação.<sup>10</sup>

Quando se trata de doenças multifatoriais, a ação conjunta de diversos genes que causam a doença é uma das dificuldades do tratamento. Nesses casos, além da interação dos genes, os fatores ambientais e epigenéticos também influenciam na complexidade da doença.<sup>9</sup> Apesar da facilidade relativa de aplicação do tratamento para doenças cuja mutação ocorre em apenas um gene, os protocolos para essas enfermidades atingem, atualmente, uma taxa de cerca de 10% (Figura 2).

Esse percentual é justificado por dois motivos principais. Primeiro, devido à incidência de doenças multifatoriais na população ser bem mais elevada que a taxa de doenças monogênicas, assim, os resultados positivos para essas enfermidades apresentariam vantagens para um número maior de indivíduos. E segundo, devido as dificuldades no tratamento das neoplasias relacionadas com a heterogeneidade genética na evolução clonal e resistência aos fármacos, a busca por terapias alternativas inclui o promissor uso de terapia gênica.<sup>4</sup>

Dependendo do tipo de enfermidade para a qual a terapia gênica é proposta, o tratamento pode ser aplicado com diferentes finalidades: inclusão de cópias gênicas funcionais ou reparo do gene com mutação (doenças monogênicas), apoptose de células doentes realizada direta e indiretamente (câncer) e inibição da expressão gênica (doenças infecciosas e câncer).<sup>5,11</sup>

## PRINCIPAIS LIMITAÇÕES DO USO DE TERAPIA GÊNICA: OS VETORES

Se a terapia gênica ainda não é considerada um procedimento de sucesso, é porque ainda não foram obtidos resultados totalmente satisfatórios. Apesar da eficácia de alguns ensaios, em outros foram diagnosticados efeitos adversos não toleráveis ou ausência de benefícios pós-tratamento. Entre as dificuldades que impedem o uso clínico, destacam-se a eficiência da transferência, o direcionamento do gene para atuar especificamente nas células-alvo, a duração da expressão e a segurança do método, que engloba efeitos *off-target* e mutações por inserção.<sup>4</sup>

Com relação às barreiras na eficiência da terapia, a razão crucial é a necessidade do desenvolvimento de um sistema de entrega de genes eficaz, que resulte em expressão duradoura.<sup>12</sup>

Atualmente, há vários sistemas de transferências de genes e cada um possui atributos distintos, incluindo vantagens e desvantagens (Quadro 1).

A falta de um sistema de transferência gênica apto a quaisquer tipos de procedimentos conduz à escolha de um vetor que possua vantagens mais convenientes à situação em que será usado. O vetor é definido dependendo do tipo de enfermidade a ser tratada, das células que serão alvos e do tempo necessário de expressão.<sup>13</sup>

Os vetores retrovirais, por exemplo, são considerados como um eficiente sistema de transferência de genes. A vantagem desses vetores é sua integração no genoma da célula-alvo, oferecendo maior durabilidade da expressão. Contudo, essa peculiaridade pode ser revertida em um problema na transferência, pois a integração ocorre de modo aleatório no DNA do hospedeiro. Caso o vetor seja inserido em algum local indevido (*off-target*) do genoma, há riscos de propiciar a ocorrência de mutagênese insercional, que é o surgimento de alguma mutação no gene em que o vetor se instalou, e existe, também, uma tendência maior de instalação do vetor próximo a oncogenes que propiciam o desenvolvimento de tumores no hospedeiro.<sup>14,15</sup>

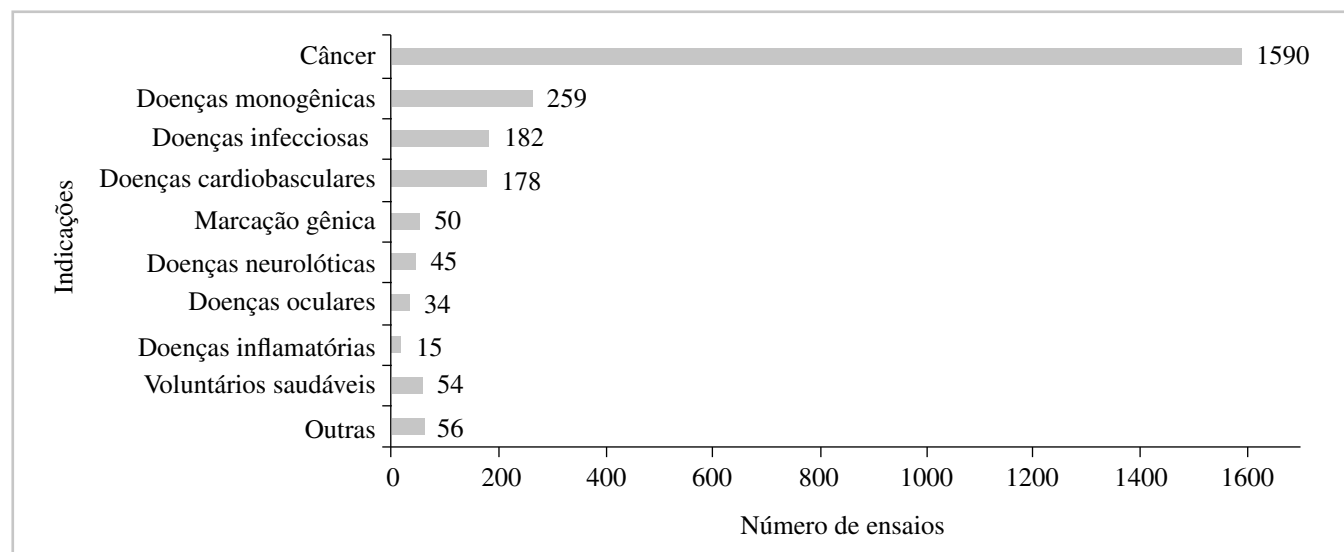


Figura 2. Indicações terapêuticas dos atuais ensaios clínicos de terapia gênica.

Problemas com mutagênese insercional foram relatados nos anos de 2002 e 2003 em crianças que foram tratadas por terapia gênica para Imunodeficiência Combinada Grave ligada ao cromossomo X (SCID-X1). Assim como os portadores de SCID-ADA (Adenosina Desaminase), as crianças com SCID-X1 em geral não sobrevivem além do primeiro ano de vida. O teste consistiu em isolar os linfócitos T de crianças, transferir os transgenes *ex vivo* para os linfócitos através de retrovírus e, por fim, transplantar as células modificadas nos devidos pacientes. Os ensaios foram realizados em dez crianças, sendo que nove delas apresentaram melhoras significativas após o tratamento.<sup>16,17</sup>

Passados de trinta a sessenta meses após a infusão gênica, quatro dos nove pacientes que haviam demonstrado bons resultados desenvolveram leucemias, onde células T específicas se proliferaram descontroladamente. As avaliações do caso indicaram que a neoplasia foi originada devido à inserção do retrovírus próximo a um gene com potencial para desencadear o câncer, ativando-o. As quatro crianças foram submetidas a seções de quimioterapia, surtindo melhoras em três delas. No entanto, um dos pacientes não respondeu positivamente ao tratamento quimioterápico e faleceu vinte e seis meses após o surgimento da leucemia.<sup>18-20</sup>

Respostas imunológicas exacerbadas também podem reverter-se em danos graves ao paciente. O primeiro e talvez mais relevante caso de consequências adversas resultantes de reação imunológica aos vetores, foi do jovem americano de 18 anos, Jesse Gelsinger, portador da Deficiência de Ornitina Transcarbamilase (OTCD).<sup>21</sup>

Desde a infância, Jesse teve sua dieta monitorada, com restrição dos alimentos fontes de proteínas, além de receber uma elevada quantidade diária de medicamentos, estabilizando sua condição. Jesse foi convidado a participar como voluntário de um ensaio clínico de terapia gênica na Universidade da Pensilvânia, Estados Unidos. Em 13 de setembro de 1999, recebeu as infusões do vetor adenoviral contendo o gene que codificaria a enzima de interesse. No dia seguinte à transferência, Jesse apresentou sintomas de uma intensa e inespe-

rada reação imunológica. Rapidamente o jovem recebeu os devidos cuidados, mas faleceu quatro dias após o tratamento, em 17 de setembro de 1999, por conta de uma inflamação sistêmica e falência de múltiplos órgãos.<sup>22</sup>

A repercussão negativa provocada por episódios como esse demonstrou preocupação quanto à segurança desse procedimento e conseqüente restrição de alguns testes pelos órgãos reguladores.<sup>23</sup> Ao mesmo tempo, foi essencial para notificar as questões que restringem o avanço da terapia gênica e incentivar a busca por melhorias. O aprimoramento dos sistemas de entregas de genes e o conhecimento mais amplo das doenças de interesse serão a chave para o desenvolvimento de transferências mais seguras e eficazes.<sup>24</sup>

## PROTOSCOLOS ATUAIS ENVOLVENDO A TERAPIA GÊNICA

Todo novo procedimento terapêutico deve transpor as barreiras da fase experimental (estudos pré-clínicos), antes de obter consentimento para ser aplicado como uma técnica clínica. Com a terapia gênica o processo é o mesmo: é imprescindível que os estudos sejam realizados em várias etapas, onde serão avaliados critérios como segurança, efeitos desfavoráveis e potencial terapêutico do tratamento.<sup>24</sup> É preciso que os experimentos demonstrem que o gene utilizado é corretamente entregue e permanece nas células de interesse, cumprindo a função designada e sem causar danos expressivos.<sup>25</sup>

Os ensaios clínicos de intervenção gênica que estão sendo realizados atualmente apresentam-se em diversas etapas. No entanto, dos 2409 protocolos de terapia gênica em execução no mundo inteiro, 2.287 encontram-se nas fases I e II ou no processo de transição entre ambas, comprovando a imaturidade das pesquisas relacionadas à terapia gênica.<sup>26</sup>

O maior impedimento para o progresso dos ensaios até o exercício clínico se deve a problemas de segurança da terapia. A maioria dos testes já realizados não foi suficiente para

Quadro 1. Principais vetores de transferência gênica.

Vetor / Características	Retrovírus	Adenovírus	Vírus adenoassociado	Lentivírus	Plasmídeo
Meio de transferência	<i>Ex vivo</i>	<i>In situ</i>	<i>In situ</i>	<i>Ex vivo</i>	<i>In situ</i>
Integração no genoma do hospedeiro	Sim	Não	Raramente	Sim	Não
Alvo: células em fase mitótica e não mitótica	Apenas células em divisão	Sim	Sim	Sim	Sim
Expressão a longo prazo	Sim	Não	Sim	Sim	Não
Imunogênico	Sim	Sim	Raramente	Raramente	Não
Resposta imune	Não	Sim	Sim, mas leve	Não	Não
Risco de mutagênese insercional	Sim	Não	Raramente	Sim	Não
Aplicação típica	Sistema hematopoiético	Câncer, ocular, neurológica	Fibrose cística, hemofilia	Sistema hematopoiético	Cardiovascular, câncer, vacinas

demonstrar a ausência de efeitos colaterais em longo prazo e ao mesmo tempo garantia de eficácia.<sup>27</sup>

Entre os escassos ensaios clínicos com vetores virais que alcançaram o fim dos testes e foram aprovados para comercialização, os principais são:<sup>23,28-30</sup>

- Gendicine™: vetor adenoviral não-replicativo, indicado para o tratamento de tumores de cabeça e pescoço, fabricado por Gentech SiBiono (China) e aprovado para uso em 2003;
- Oncorine™: vetor adenoviral que replica condicionalmente, indicado para o tratamento de tumores de nasofaringe, cabeça e pescoço, fabricado por Sunway Biotech (China) e aprovado para uso em 2005;
- Rexin G™: vetor retroviral não-replicativo, indicado para o tratamento de tumores metastáticos, fabricado por Biotecnologie Epeius (Filipinas) e aprovado para uso em 2007;
- Cerepro®: vetor adenoviral indicado para o tratamento de tumores cerebrais, fabricado por Ark Therapeutics Group (Finlândia) e aprovado para uso em 2008;
- Glybera™: vetor adenoassociado não-replicativo, indicado para o tratamento de deficiência de lipoproteína lipase, fabricado UniQure (União Europeia) e aprovado para uso em 2012;
- Imlytic™: vírus herpes simples oncolítico, indicado para o tratamento de melanoma, fabricado por BioVex (Estados Unidos) e aprovado para uso em 2015;
- Strimvelis: tratamento *ex-vivo* através da inserção, por meio de retrovírus, do gene ADA nas células CD34+ retiradas da medula óssea do próprio paciente, indicado para o tratamento de SCID-ADA, fabricado por GlaxoSmithKline (Reino Unido) e aprovado para uso em 2016.

Apesar de já existirem produtos disponíveis no mercado, o tratamento ainda é praticamente inacessível financeiramente. Glybera™, por exemplo, é vendido por mais de um milhão de dólares.<sup>30</sup>

## A TERAPIA GÊNICA NO BRASIL

Os estudos sobre terapia gênica no Brasil estão em fase prematura, comparado com outros países. O principal protocolo brasileiro foi realizado pelo Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul, entre 2007 e 2009, com o objetivo de tratar cardiopatia isquêmica, doença crônica relacionada com o desequilíbrio entre necessidade e fornecimento de oxigênio ao coração. A enfermidade é causada pela obstrução dos vasos sanguíneos que irrigam o coração por meio de aterosclerose, resultando em angina, sintoma caracterizado por intensas dores no peito devido à falta de oxigenação.<sup>31</sup>

O ensaio foi realizado em treze pacientes julgados intratáveis por método cirúrgico. A transferência do gene de interesse por meio de um vetor plasmidial visava a expressão eficaz do Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF), que desempenha função essencial como mediador da angiogênese. A intervenção foi realizada através de injeções intramiocárdi-

cas contendo o vetor.<sup>31,32</sup> Em resultados parciais foi formulada a seguinte consideração: a terapia gênica com VEGF165 plasmidial demonstrou-se segura e viável nessa amostra de pacientes.

Os resultados clínicos iniciais parecem demonstrar melhora da intensidade da isquemia nas áreas de miocárdio três meses após o tratamento. Nesta série de pacientes, observou-se melhora da qualidade de vida e das classes de angina e insuficiência cardíaca no mesmo período. Apesar deste estudo ter sido realizado em uma série pequena de pacientes, os resultados parciais parecem promissores, estimulando a pesquisa sobre essa nova modalidade de tratamento.<sup>32</sup>

Até o momento, este foi o único ensaio aprovado e realizado exclusivamente no Brasil. Outros estudos e testes em animais estão sendo desenvolvidos, no entanto a falta de financiamento em terapia gênica por parte do setor público e privado reflete em carência na evolução dos ensaios.<sup>27,28</sup>

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise dos ensaios clínicos de transferência de genes já realizados evidenciou que a terapia gênica é uma promissora forma de tratamento para as doenças genéticas ou adquiridas. No entanto, é uma realidade que mostra que, mesmo transcorridas mais de duas décadas da aprovação do primeiro teste, ainda não foram obtidos todos os resultados esperados. As dificuldades em produzir sistemas de transferências de genes eficientes e seguros são os grandes obstáculos para o progresso da terapia gênica.

Os conhecimentos adquiridos através das limitações demonstradas nos ensaios clínicos, aliados ao aprofundamento dos estudos sobre a biologia molecular das doenças alvo, serão de extrema importância para que o sucesso absoluto nos testes de terapia gênica seja alcançado. Além disso, o sistema CRISPR/Cas9 despertou grandes esperanças na resolução de doenças genéticas, conciliando técnicas moleculares e biotecnológicas, e hoje já se encontra comercialmente disponível para edição genômica de milhares de genes alvos.

Espera-se que, em breve, a transferência de genes possa ser considerada um procedimento clínico eficaz, assim como os produtos já comercializados atualmente aparentam ser. No momento em que essa proposição for realmente concretizada, a terapia gênica beneficiará uma infinidade de portadores de diversas enfermidades, para as quais os métodos terapêuticos atuais são ineficazes ou inexistentes.

## REFERÊNCIAS

1. Snustad PD, Simmons MJ. Fundamentos de genética. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.
2. Schwartz IV, Souza CFM, Giugliani R. Tratamento de erros inatos do metabolismo. J Pediatr (Rio J). 2008;84(4 Supl. 0):S8-19. <http://dx.doi.org/10.1590/S0021-75572008000500003>
3. Friedmann T, Roblin R. Gene therapy for human genetic disease? Science. 1972;175(4025):949-55. <https://www.jstor.org/stable/1732705>

4. Nardi NB, Teixeira LAK, Silva EFA. Terapia gênica. *Ciênc Saúde Coletiva*. 2002;7(1):109-16. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232002000100010>
5. Menck CFM, Ventura AM. Manipulando genes em busca de cura: o futuro da terapia gênica. *Rev USP*. 2007;(75):50-61. <http://dx.doi.org/10.11606/issn.2316-9036.v0i75p50-61>
6. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson & Thompson: genética médica. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.
7. Granner DK. Tecnologia do DNA recombinante. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, editores. *Harper: bioquímica*. 9ª ed. São Paulo: Atheneu; 2002. p.488-504.
8. Linden R. Genes contra doenças: terapia gênica: uma nova era na genética. Rio de Janeiro: Vieira e Lent; 2008.
9. Moss JA. Gene therapy review. *Radiol Technol*. 2014;86(2):155-80.
10. Keeler A, ElMallah M, Flotte T. Gene therapy 2017: progress and future directions. *Clin Transl Sci*. 2017;10(4):242-8. <http://dx.doi.org/10.1111/cts.12466>
11. Read AP, Strachan T. *Genética molecular humana*. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2002.
12. Mountain A. Gene therapy: the first decade. *Trends Biotechnol*. 2000;18(3):119-28. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(99\)01416-X](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(99)01416-X)
13. Kalil RAK, Sant'Anna RT. Terapia gênica aplicada às doenças cardiovasculares. *Rev Soc Cardiol Rio Gd Sul*. 2004;(3):213-9.
14. Ponder KP. Vectors of gene therapy. In: Kresina TF, editor. *An introduction to molecular medicine and gene therapy*. Nova York: Wiley Online Library; 2001. p.77-112.
15. Walther W, Stein U. Viral vectors for gene transfer a review of their use in the treatment of human disease. *Drugs*. 2000;60(2):249-71. <https://doi.org/10.2165/00003495-200060020-00002>
16. Chinen J, Puck JM. Successes and risks of gene therapy in primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113(4):595-603. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.01.765>
17. Hacein-Bey-Abina S, Le Deist F, Carlier F, Bouneaud C, Hue C, De Villartay J-P, et al. Sustained correction of X-linked severe combined immunodeficiency by ex vivo gene therapy. *N Engl J Med*. 2002;346(16):1185-93. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa012616>
18. Cavazzana-Calvo M, Fischer A. Gene therapy for severe combined immunodeficiency: are we there yet? *J Clin Invest*. 2007;117(6):1456-65. <https://doi.org/10.1172/JCI30953>
19. Hacein-Bey-Abina S, Garrigue A, Wang GP, Soulier J, Lim A, Morillon E, et al. Insertional oncogenesis in 4 patients after retrovirus-mediated gene therapy of SCID-X1. *J Clin Invest*. 2008;118(9):3132-42. <https://doi.org/10.1172/JCI35700>
20. Howe SJ, Mansour MR, Schwarzwaelder K, Bartholomae C, Hubank M, Kempinski H, et al. Insertional mutagenesis combined with acquired somatic mutations causes leukemogenesis following gene therapy of SCID-X1 patients. *J Clin Invest*. 2008;118(9):3143-50. <https://doi.org/10.1172/JCI35798>
21. Wolf SM, Gupta R, Kohlhepp P. Gene therapy oversight: lessons for nanobiotechnology. *J Law Med Ethics*. 2009;37(4):659-84. <https://doi.org/10.1111/j.1748-720X.2009.00439.x>
22. Wilson JM. Lessons learned from the gene therapy trial for ornithine transcarbamylase deficiency. *Mol Genet Metab*. 2009;96(4):151-7. <https://doi.org/10.1016/j.yimgme.2008.12.016>
23. Li B, Gao N, Zhang Z, Chen Q, Li L, Li Y. Historical and clinical experiences of gene therapy for solid cancers in China. *Genes (Basel)*. 2017;8(3):85. <https://doi.org/10.3390/genes8030085>
24. Penque D. Terapia gênica: um objetivo ou uma realidade. *Bol Biotecnol*. 2000;66:16-9. [https://www.spbt.pt/downloads/bulletins/Boletim\\_66.pdf](https://www.spbt.pt/downloads/bulletins/Boletim_66.pdf)
25. Fletcher JC. Moral problems and ethical issues in prospective human gene therapy. *Va Law Rev*. 1983;69(3):515-46.
26. *Journal of Gene Medicine*. Gene therapy clinical trials worldwide: charts & tables [Internet]. 2017 [acesso em 29 nov. 2017]. Disponível em: <http://www.abedia.com/wiley/>
27. Linden R. Terapia gênica: o que é, o que não é e o que será. *Estud Av*. 2010;24(70):31-69. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-40142010000300004>
28. Costanzi-Strauss E, Strauss BE. Perspectivas da terapia gênica. *Rev Med*. 2015;94(4):211-22. <http://dx.doi.org/10.11606/issn.1679-9836.v94i4p211-222>
29. Hanna E, Rémuzat C, Auquier P, Toumi M. Gene therapies development: slow progress and promising prospect. *J Mark Access Health Policy*. 2016;5(1):1-9. <http://dx.doi.org/10.1080/20016689.2017.1265293>
30. Touchot N, Flume M. Early insights from commercialization of gene therapies in Europe. *Genes (Basel)*. 2017;8(2):78. <http://dx.doi.org/10.3390/genes8020078>
31. Eibel B, Rodrigues CG, Giusti II, Nesralla IA, Prates PRL, Sant'Anna RT, et al. Terapia gênica para cardiopatia isquêmica: revisão de ensaios clínicos. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2011;26(4):635-46. <http://dx.doi.org/10.5935/1678-9741.20110056>
32. Kalil RAK, Salles FB, Giusti II, Rodrigues CG, Han SW, Sant'Anna RT, et al. Terapia gênica com VEGF para angiogênese na angina refratária: ensaio clínico fase I/II. *RBM Rev Bras Med*. 2010;25(3):311-21. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-76382010000300006>

#### Como citar este artigo:

Silva ACR, Barbosa Júnior J. Realidades e perspectivas do uso de terapia gênica no tratamento de doenças. *Rev Fac Ciênc Méd Sorocaba*. 2018;20(3):122-7. <http://doi.org/10.23925/1984-4840.2018v20i3a2>