

## TERAPIA GÊNICA NA DMD

Carla Santos Oliveira, Mariana Muniz Dos Santos Guella, Frederico Kauffmann Barbosa  
Área Temática: Biomedicina

## RESUMO

Terapia gênica é o tratamento ou a sua tentativa, de doenças genéticas ou não-genéticas por meio da introdução, em células específicas do paciente, de cópias de genes com objetivos terapêuticos. Assim, terapia gênica é o uso de genes ao invés de drogas para tratamento de doenças. A possibilidade de transferir informação genética de um organismo para outro, que constitui o fundamento da terapia gênica, é conhecida, em bactérias, desde 1944, a partir da clássica experiência de Avery, McLeod e McCarty. Nas décadas de 60 e 70, a idéia de transferir genes para curar doenças em humanos tornou-se mais próxima da realidade: desenvolveram-se linhas de células geneticamente marcadas; compreendeu-se o mecanismo de transformação celular em mamíferos pelos vírus polioma e SV40 e, posteriormente, criaram-se as técnicas de DNA recombinante permitindo, assim, a primeira tentativa de transferência gênica em organismos complexos. No final da década de 80, o National Institutes of Health (NIH) aprovou o primeiro protocolo para teste de terapia gênica em humano, o qual consistia na transferência de genes do sistema imune para um paciente em estado avançado de neoplasia maligna. O objetivo, na época, não era avaliar eficácia terapêutica, mas sim demonstrar que um gene pode ser transferido, com segurança, para dentro do paciente e em seguida identificado em células retiradas do mesmo. Em 1990, foram realizados nos Estados Unidos, com objetivos clínicos científicos, os primeiros casos de terapia gênica em humanos: duas crianças com deficiência da enzima adenosina deaminase (ADA) foram tratadas por terapia gênica somática, visando avaliar a eficácia terapêutica de linfócitos autólogos nos quais se inseriu o gene normal da ADA, e determinar a sobrevida desses linfócitos in vivo e o tempo de expressão do gene nele inserido. Para Weatherall, os procedimentos técnicos necessários à terapia gênica em humanos são fáceis de enumerar (cinco passas), porém difíceis de alcançar: o primeiro passo consiste em isolar o gene e suas sequências reguladoras; o segundo - visando à obtenção de um número necessário de células para reintrodução no paciente, na necessidade de se obter em cultura uma quantidade suficiente de células retiradas do paciente, nas quais será inserido o gene terapêutico. O terceiro passo é dispor de um mecanismo eficiente (vetores) para inserir o gene nas células; o quarto, que o gene inserido incorpore-se ao genoma celular e funcione, isto é, que haja produto gênico em quantidade suficiente e por longo tempo; e o quinto, que todos estes procedimentos novos apresentem efeitos colaterais indesejáveis. Dois tipos de técnicas, denominadas de *ex vivo* e *in vivo*, são utilizadas para levar genes para o interior das células somáticas do corpo humano. Na técnica *ex vivo*, retiram-se células do paciente, faz-se cultura das mesmas, usam-se vetores para nelas inserir o gene previamente isolado e por infusão, essas células tratadas são levadas de volta ao paciente. As células da medula são as mais usadas em terapia *ex vivo*, embora existam testes em outros tipos de células. Na técnica *in vivo*, o gene é levado diretamente ao organismo do paciente, também usando vetores, porém dispensando a retirada de células e sua subsequente reintrodução no paciente. O isolamento do gene e o seu teste em culturas de células não constituem grandes problemas de ordem técnica e/ou bioética para fins de tratamento de doenças. A tecnologia de DNA recombinante, desenvolvida em organismos simples, vem sendo, com sucesso, transposta para organismos complexos, inclusive o humano. O desenvolvimento de vetores, todavia, continua sendo um dos grandes problemas em terapia gênica, tanto do ponto de vista técnico como ético. O gene isolado e replicado precisa de um vetor que o transporte para dentro de células específicas do paciente, que o incorpore ao DNA destas células e o ative para desempenho exclusivo e adequado da função. Terapia genética é nova opção no tratamento da distrofia muscular de Duchenne. Os estudos da terapia gênica são voltados para a melhor maneira de transferir o DNA sadio, o qual poderá ser feita através de injeção direta de DNA, complexo de receptores-ligantes e eletroporação. Distrofia Muscular de Duchenne (DMD), segunda doença geneticamente hereditária que mais acomete o ser humano. Esta se caracteriza como um distúrbio genético recessivo, ligado ao cromossomo X (braço curto, região Xp21), referente a uma mutação genética que codifica a distrofina, uma proteína presente na superfície da membrana da célula muscular e responsável pela estabilização do sarcolema. Apresenta incidência de aproximadamente 1 a cada 3500 nascidos vivos, sendo maior no sexo masculino. Um terço dos casos ocorre devido a novas mutações e dois terços são herdados da mãe portadora do cromossomo alterado. A ausência da distrofina começa uma reação em cadeia que conduza eventualmente à degeneração e à morte de pilha do músculo. Por anos, os cientistas têm trabalhado para encontrar a chave a restaurar a distrofina, mas enfrentaram muitos desafios. Um dos obstáculos os maiores na terapia genética de DMD é o grande tamanho do gene. Distrofina é o gene o maior no genoma humano, contendo aproximadamente 4.000 ácidos aminados e para caber o gene do distrofina em um veículo que poderia entregar o gene ao local apropriado no corpo, um tem que suprimir de 70 por cento do gene. O gene altamente abreviado é sabido como o "micro-dystrophin" gene. Os estudos Precedentes sugerem que micro-dystrophin possa eficazmente parar a doença do músculo nos ratos que estão faltando o dystrophin. Contudo, os ratos que estão faltando sintomas mínimos da mostra DMD do dystrophin, e os resultados dos ratos frequentemente não prevêem o que acontecerá nos seres humanos. A Distrofia Muscular foi descrita pela primeira vez na primeira metade do século XIX pelo médico inglês Charles Bell, que relatou o "Case of Partial Paralysis of the Lower Extremities". Em 1836, Conte e Gioja descreveram dois irmãos que desenvolveram fraqueza muscular progressiva nos membros inferiores e hipertrofia progressiva das musculaturas gastrocnêmio e deltóide, por volta dos 8 e 10 anos de idade. Já em 1847, Partridge relatou o 1º exame patológico de um paciente com distrofia muscular de Duchenne. A primeira descrição completa da doença foi realizada em 1852 pelo Dr. Edward Meryon. Ele se interessou pela natureza familiar da doença, isto é, relativa a ascendentes e descendentes e a predileção pelo sexo masculino. Concluiu ser uma doença que afeta o tecido muscular, não sendo um distúrbio do sistema nervoso. Embora a contribuição de Meryon tenha sido altamente significativa, seu trabalho foi ofuscado pelo do neurologista francês Dr. Guillaime Benjamin Amand Duchenne, que nove anos depois descreveu casos da doença. Em 1868, numa revisão mais detalhada, acrescentou mais 12 casos, onde incluía duas meninas e referia 15 casos da literatura germânica. Dr. Duchenne definiu a doença como sendo a perda progressiva dos movimentos, afetando inicialmente os membros inferiores e posteriormente os superiores, com hipertrofia progressiva dos músculos afetados, aumento intersticial do tecido conjuntivo nos mesmos e aumento significativo de tecido adiposo nos músculos em estágio mais avançado. Mais prevalente em meninos do que em meninas podendo afetar várias crianças da mesma família. Pela primeira vez, graças ao Dr. Duchenne, obteve-se biópsias em pacientes vivos, podendo assim estudar materiais do mesmo paciente em diferentes estágios da doença. Suas investigações levaram-no a concluir que a lesão anatômica fundamental era a hiperplasia do tecido conectivo intersticial, levando-o a utilizar o termo Paralisia Mioesclerótica como uma alternativa ao termo Paralisia Muscular Pseudo-hipertrofica. O uso da técnica desenvolvida por Dr. Duchenne para conseguir material de biópsia in vivo também permitiu que o diagnóstico pudesse ser feito em vida. O quadro clínico, patologia, prognóstico e possibilidade de tratamento só foram descritos em 1879 por William R. Gowers. Ele estava claramente convencido da natureza hereditária da doença e concluiu que a limitação ao sexo masculino era herdada somente através da mãe. Este pesquisador descreveu também a "manobra ou sinal de Gower", presente nesta doença, que é a passagem da posição deitada para a bipedestação e "consiste em levantar-se apoiando sucessivamente as mãos nos diferentes segmentos dos membros inferiores, de baixo para cima, como se a criança estivesse ascendendo sobre si mesma". Wilhelm Heinrich Erb foi o primeiro a admitir a idéia de tratar-se não somente de uma doença, mas de um grupo de doenças, as chamadas distrofias musculares progressivas, caracterizadas por uma degeneração do tecido muscular.

**Palavras-chave:** Terapia gênica, Duchenne, Distrofia muscular.