

CENTRO UNIVERSITÁRIO UNA BETIM

BACHARELADO EM BIOMEDICINA

BARBARA ROCHA BRANDÃO EMILIANO

HUGO TADEU SOUZA PEDRA

JULIANA ALVES RODRIGUES

RACHEL RESENDE

PERSPECTIVAS DA TERAPIA GÊNICA NO TRATAMENTO DA ANEMIA

FALCIFORME

BETIM

2021

BARBARA ROCHA BRANDÃO EMILIANO
HUGO TADEU SOUZA PEDRA
JULIANA ALVES RODRIGUES
RACHEL RESENDE

**PERSPECTIVAS DA TERAPIA GÊNICA NO TRATAMENTO DA ANEMIA
FALCIFORME**

Trabalho de Conclusão de curso apresentado
como requisito parcial para obtenção do título
de Bacharel (a) em Biomedicina no Centro
Universitário UNA Betim.

Orientadora: MSc. Suellen Rodrigues Martins

BETIM

2021

Artigo de Revisão

PERSPECTIVAS DA TERAPIA GÊNICA NO TRATAMENTO DA ANEMIA

FALCIFORME

PERSPECTIVES OF GENE THERAPY IN THE TREATMENT OF SICKLE ANEMIA

Barbara Rocha Brandão Emiliano¹; Hugo Tadeu Souza Pedra¹; Juliana Alves Rodrigues¹; Rachel Resende¹; Suellen Rodrigues Martins².

¹ Discentes do curso de Biomedicina do Centro Universitário Una de Betim;

² Biomédica, Mestra em Análises Clínicas e Toxicológicas, Professora Adjunta do Centro Universitário Una de Betim

RESUMO

A anemia falciforme é uma das classes de hemoglobinopatias hereditárias de alta relevância social, e que atualmente acomete entre 5 e 7% da população mundial. Caracteriza-se pela mutação das bases nitrogenadas acarretando a substituição do ácido glutâmico por valina na cadeia beta dos aminoácidos, afetando diretamente na formação dos eritrócitos saudáveis. A sua descoberta ocorreu no continente africano e acomete a maior parte da população negra e sócio vulnerável. Os pacientes que sofrem dessa patologia possuem uma sobrevida baixa e tem a sua qualidade de vida afetada, uma vez que, tendem a passar por diversas hospitalizações devido a disfunções provocadas pela anemia falciforme, além de causar sintomas como crises de dores intensas nos ossos e articulações, fadiga e infecções. No entanto, a maioria dos tratamentos apresentados para essa patologia, ocorre através de medidas paliativas que amenizam os sintomas dos pacientes e possui somente uma opção de técnica curativa, que corresponde ao transplante de células-tronco hematopoiéticas alogênicas. Em contrapartida, com a descoberta da terapia gênica e estudos realizados, houve uma nova perspectiva de mais uma opção de cura, tendo como principal

diferencial ser um tratamento de transplante de células hematopoiéticas (HSCs) autólogo o que possibilita aumentar o tratamento do número de pacientes acometidos com AF de todo o mundo.

Palavras-chave: anemia falciforme; terapia genética; hemoglobinopatias,

ABSTRACT:

Sickle cell anemia is one of the hereditary hemoglobinopathy classes of high social relevance, which currently affects between 5 and 7% of the world population. It is characterized by the mutation of nitrogenous bases causing the replacement of glutamic acid by valine in the beta chain of amino acids, directly affecting the formation of healthy erythrocytes. Its discovery took place on the African continent and affects most of the black population and vulnerable members. Patients suffering from this pathology have a low survival rate and their quality of life is affected, since they tend to go through several hospitalizations due to disorders caused by sickle cell anemia, in addition to causing symptoms such as intense pain crises in the bones and joints, fatigue and infections. However, most treatments presented for this pathology occur through palliative measures that alleviate the symptoms of patients and have only one curative technique option, which corresponds to allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. On the other hand, with the discovery of Gene Therapy and studies carried out, there was a new perspective of one more cure option, with the main differential being an autologous hematopoietic cell transplantation (HSCs) treatment, which makes it possible to increase the treatment of the number of patients affected with AF from all over the world.

Keywords: sickle cell anemia; gene therapy; hemoglobinopathies

1 INTRODUÇÃO

A Anemia Falciforme (AF) integra o grupo das patologias de hemoglobinopatias existentes e pode ser conceituada como uma anomalia genética de caráter hereditário, no qual acarreta disfunção na hemoglobina S (HbS) dos eritrócitos. Os portadores dessa condição são homozigotos (herdam pares de alelos iguais) e devido a uma mutação pontual nas bases nitrogenadas timina → adenina, de uma alteração na cadeia beta globina das hemácias. Essa modificação a nível de Hb é caracterizada pela troca do ácido glutâmico por valina (aminoácidos localizados no cromossomo onze no sexto códon) das cadeias globínicas, afetando assim, diretamente na formação e na eficiência das hemoglobinas do organismo. Tal alteração genética leva ao desenvolvimento de polimerização e falcização, processo em que muda o formato das hemácias (ganham um formato de foice) e podem levar ao bloqueio da passagem do fluxo sanguíneo (DERMIRCI, 2018).

Os sinais e sintomas da AF geralmente se iniciam na infância, como infecções constantes; crises de dores intensas nos ossos e articulações; fadiga; dor na barriga; palidez; icterícia; inchaço da barriga por decorrência do aumento do baço, que se prolongam até a vida adulta (DERMIRCI, 2018). No entanto, o diagnóstico dessa patologia pode ser realizado por intermédio de exames laboratoriais, tais como; hemograma, teste de falcização, teste solubilidade, dosagem de hemoglobina fetal e hemoglobina A2, focalização isoelétrica, imunoensaio e triagem em neonatal. Vale ressaltar que, devido ao seu caráter hereditário, a realização do teste do pezinho é fundamental para a identificação precoce e acompanhamento dos casos (NOGUEIRA, 2013).

Já a rotina de tratamento dessa patologia, pode ser realizada por administração de terapia medicamentosa não curativa, composta por: ácido fólico de uso contínuo, penicilina oral ou

injetável (obrigatório até os cinco anos), e a Hidroxiureia (HU). Também pode ser necessário a aplicabilidade de transfusões sanguíneas crônicas e como opção curativa disponível e viável até o momento, o transplante de células-troncos hematopoiéticas halogênicas. Entretanto, existe em desenvolvimento uma nova abordagem ainda em fase de pesquisa e ensaios clínicos que tem como objetivo a busca de auxiliar no tratamento e principalmente na cura de doenças monogênicas como a AF e outras hemoglobinopatias existentes. Essa abordagem é denominada terapia gênica (DERMIRCI, 2018).

A terapia gênica pode ser explicada como um tratamento certificado, constituído por um grupo de medicamentos ou por produtos de engenharia de tecidos e células processadas. Sendo utilizadas na aplicação da adição de um gene modificado e saudável na célula do paciente, através de transportadores recombinantes e não patogênicos, que adiciona um gene saudável para a restauração celular atribuindo uma nova função a célula alvo, e pode ser classificada como *ex vivo* e *in vivo*, em que cada uma é diferenciada pelo tipo de vetor que será responsável pelo carreamento do gene modificado até a célula alvo. Os vetores mais utilizados são os lentivirais em que ocorre a transferência do material genético modificado nas células hematopoiéticas ou célula-tronco e vetores adeno-associados em que há a infusão diretamente nas células pós mitótica do paciente (LÄKARTIDNINGEN, 2017).

Vale ressaltar que, a aplicabilidade desse tratamento acontece principalmente em patologias monogênicas em que há a transmissão de genes hereditários que possuem características de herança recessiva. Podemos citar como exemplo dessas doenças a SCID-X1 e SCID-ADA que envolvem o sistema imune e hemofilia como a AF. Em que ao acrescentar um gene corrigido em uma célula com mutação a mesma pode se recuperar e finalmente se replicar

com a devida função reestabelecida. Podemos mencionar também, o tratamento de outras deficiências hereditárias com a utilização da terapia gênica, no entanto, o número de voluntários é reduzido. Entretanto, é de suma importância lembrar dos casos de pacientes acometidos com hemofilia B e que após se submeterem ao tratamento, alcançaram a capacidade de produzir o fator IX, diminuindo ou encerrando a necessidade de reposição dessa proteína recombinante no organismo. Posteriormente, foi registrado outro caso em que ocorreu a alteração do fator IX em que resultou no aumento da capacidade da coagulação do sangue do paciente amplificando assim a eficácia do tratamento (LÄKARTIDNINGEN, 2017).

Desta forma, o presente estudo tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica a respeito das perspectivas da terapia gênica no tratamento da anemia falciforme. A pesquisa se justifica, pois, é de suma importância estudos que possam contribuir na divulgação dessa doença, visto que, essa patologia acomete várias pessoas ao nível mundial e acarreta diversas consequências aos doentes, dentre elas hospitalizações recorrentes devido a disfunções provocadas pela AF, além de causar sintomas como crises intensas de dores nos ossos e articulações, fadiga e infecções, comprometendo assim a qualidade de vida, e ocasionando a baixa sobrevida. Além de incentivar novas pesquisas abordando a terapia gênica como um tipo de tratamento inovador de recurso terapêutico que possibilita cuidar e curar os pacientes vítimas da AF (HOTEZ P, 2015).

2 METODOLOGIA

Na realização dessa revisão bibliográfica de literatura, do tipo qualitativa e descritiva, foram selecionados estudos das bases de dados Scientific Electronic Library Online (SciELO) e

Pubmed usando os seguintes descritores em língua portuguesa e inglesa: anemia falciforme (sickle cell anemia); terapia génica (gene therapy); tratamento (treatment). Os critérios estabelecidos de inclusão foram: publicações no período de 2010 a 2021, artigos publicados na íntegra e que atendiam ao tema proposto. Os critérios de exclusão foram artigos duplicados nas bases de dados; artigos de revisão; dissertações e teses. Os resultados foram apresentados descritivamente, divididos em categorias temáticas abordando: a definição, sinais e sintomas, diagnóstico, tratamentos convencionais e não-convencionais para a anemia falciforme; hemoglobinopatias; sintomas da HbS; terapia génica; definição e suas aplicações; tipos de vetores; técnicas *in vivo* e *ex vivo*; adição de genes da globina; tecnologias de edição; aumento da HbF; correção da sequência da beta globina; seus pontos positivos e perspectiva para o futuro.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados 19 artigos que contemplaram o objetivo da pesquisa. No quadro abaixo se encontram os artigos e sua breve descrição.

Quadro 1: Descrição dos artigos selecionados para a pesquisa.

Autores (Sobrenome, ano)	Título	Delineamento o estudo (Tipo de estudo)	Objetivos	Resultados (Breve descrição)	Conclusão
ALMEIDA, BERETTA, 2017	Anemia Falciforme e abordagem laboratorial: uma breve revisão de literatura.	Estudo de revisão integrativa de literatura.	Explicar sobre a doença, seus tratamentos, suas manifestações clínica e o diagnóstico.	O hemograma é o primeiro passo do diagnóstico laboratorial, pois é possível visualizar as hemácias falciformes presentes através do esfregaço sanguíneo, o número de leucócitos elevado. A heterozigose de HbS-Beta-Talassemia apresenta VCM e CHCM baixos devido a diminuição nos níveis de hemoglobinas em razão da fagocitação eritrocitária das células falciformes.	Pelos resultados laboratoriais, o profissional médico poderá avaliar a necessidade de exames moleculares confirmatórios e do acompanhamento clínico ao portador da doença falciforme. Os exames de triagem fornecem subsídios para o norteamento do pensamento clínico, porém, são nos exames eletroforéticos que ocorre a confirmação diagnóstica. O estudo sugere que o exame padrão ouro para definição diagnóstica da AF continua sendo a eletroforese de hemoglobina.
SARAT, FERREIRA, 2019	Prevalência da doença falciforme em adultos com diagnóstico tardio.	Estudo transversal, retrospectivo, com dados coletados em dois hospitais de ensino.	Estimar a prevalência da doença falciforme em adultos com diagnóstico tardio, em tratamento nos ambulatórios de hematologia na rede de saúde do Estado do Mato Grosso do Sul.	A mediana de idade ao diagnóstico foi cinco anos para os HbSS e 21 para HbSC. Não houve associação entre idade (anos) dos pacientes e genótipo (teste Qui-quadrado $p=0,601$) e nem entre genótipo e faixa etária.	O genótipo mais frequente foi o HbSS, seguido pelo HbSC. O diagnóstico dos pacientes com SC foi mais tardio do que naqueles com genótipo SS. As variáveis sociodemográficas e o diagnóstico tardio alertam para a necessidade de fortalecimento de ações na rede de saúde, que interferem sensivelmente na morbimortalidade de adultos com Doença Falciforme.
GARCÍA et al., 2016	Transplante de Medula óssea em	Um único estudo descritivo de centro	Identificar a melhora no quadro clínico em	Nenhum dos pacientes desenvolveu GVHD crônico. A sobrevida global e a	Allo-HSCT, a única terapia curativa, permanece associada à morbidade.

	pacientes com anemia falciforme.	foi realizado em pacientes com SCD que foram submetidos a um transplante de medula óssea de um doador de irmãos idênticos ao HLA entre janeiro de 2010 e dezembro de 2014.	pacientes que foram submetidos a um transplante de medula óssea	sobrevida livre de eventos foram de 90,9% e 81,9%, respectivamente, com um seguimento mediano de 3,1 (1-5,7) anos.	Houve uma mortalidade relacionada a transplantes em nosso estudo, consistente com estudos multicentros (1/11), sendo a AGVHD a principal causa. Outros problemas ainda incluem falha no enxerto (1/11) e complicações neurológicas (4/11), embora as sequelas permanentes sejam leves.
SELAMIDEMIR CI, NAOYAUCHID A, E JOHN F.TISSDALE, JULHO 2018.	Terapia Gênica para Doença Falciforme.	Ensaio Clínico.	Terapia Gênica através da adição do gene da globina.	A taxa de correção em derivadas de pacientes falciformes, apresentou 20% de taxa de correção falciforme na medula óssea CD34+	Avanços recentes nas tecnologias de transferência e edição de genes, melhor esclarecimento da regulação da eritropoiese e métodos de transplantes, impulsionaram o otimismo no desenvolvimento da cura definitiva.
SARAT CN, FERRAZ MB, FERREIRA JÚNIOR MA, CORRÊA FILHO RA, SOUZA AS, CARDOSO AL 2019.	Prevalência da doença falciforme em adultos com diagnóstico tardio.	Estudo Transversal, retrospectivo com dados coletados em dois hospitais de ensino.	Estimar a prevalência da doença falciforme em adultos com diagnóstico tardio.	A prevalência foi 3,9% com 103 adultos com doença falciforme, sendo 60 do sexo feminino e 43 do masculino.	O genótipo mais frequente foi o HbSC. O diagnóstico dos pacientes com Sc foi mais tardio do que naqueles com genótipo SS. As variáveis sociodemográficas e o diagnóstico tardio alertam para a necessidade de fortalecimento de ações na rede de saúde, que interferem sensivelmente na morbimortalidade de adultos com doença falciforme.
PAULA DADALTI GRANJA, SAMUEL BRAULIO MAGALHÃES QUINTÃO ABRIL, 2020	Úlceras de perna em pacientes com anemia falciforme	Artigo de revisão.	Aplicação terapêutica.	A prevenção é a parte principal da abordagem, consiste em evitar trauma, usar meias de algodão, sapatos confortáveis, repelentes contra insetos e emolientes, buscando evitar descamações e prurido, e prevenir escoriações.	A compreensão da fisiopatologia da úlcera falcêmica, como o papel do ON e da estase venosa, tem tomado as abordagens terapêuticas mais específicas e eficazes, reduzindo os tempos de cicatrização e melhorando a qualidade de vida do paciente com DF.

CARDOSO ET AL.,2021; JÚNIOR ET AL.,2021; POMPEO ATE AL.,2021; SARAT ET AL., 2021; IVO ET AL.,2021.	Estudos econômicos completos sobre tratamentos da anemia falciforme.	Estudo de revisão integrativa de literatura.	Dar ênfase na parte econômica das pesquisas realizadas para anemia falciforme.	Fizeram parte desta revisão 09 artigos, dos quais sete recuperados na base Elsevier's Scopus e dois na Medline via PubMed. Todos estudos completos com enfoque nas perspectivas do uso da Hidroxiureia e da transfusão sanguínea no tratamento da Anemia Falciforme.	Não foram identificados estudos realizados no Brasil com este tipo de análise para Anemia Falciforme. Há muito a ser feito mundialmente para a validação das tecnologias vigentes, revalidação das utilizadas atualmente e implementação de diagnóstico e tratamento contínuo, com um sistema que garanta uma rede de atenção ativa e eficiente aos pacientes.
NOGUEIRA ET AL.,2013; SILVA ET AL.,2013; PAIVA ET AL.,2013	Diagnóstico laboratorial da anemia falciforme.	Bibliografias: (sites, periódicos e livros).	Analizar os tipos de diagnóstico para anemia falciforme.	O Diagnóstico de qualquer patologia no seu estágio inicial é importante, havendo uma grande possibilidade de cura, no caso da Anemia Falciforme há chance de cura com a realização de transplante de medula óssea, mas tal medida não é frequente. O uso correto dos antibióticos para prevenção de infecções, assim como outras medicações, diminui a incidência de infecções e o número de crises de dor, melhorando a qualidade de vida e aumentando o tempo de vida dos pacientes.	A presente revisão corrobora com informações e destaca a importância do diagnóstico laboratorial da Anemia falciforme, principalmente para o município de Araguaína, cidade referência em saúde e ensino para o norte do Tocantins, sul do Maranhão e sul do Pará. Além de sua proximidade a comunidades remanescentes de quilombos, populações historicamente afrodescendentes e de maior predisposição à patologia.
DEMIRCI ET AL.,2018	Terapia genética para a doença falciforme: uma atualização.	<u>Ensaio clínico.</u>	<u>Exemplificar como é realizado o procedimento.</u>	Encorajadores a curto prazo, permitindo aplicação mais ampla de estratégias potencialmente curativas para pacientes com Anemia Falciforme.	Avanços recentes na transferência de genes e tecnologia de edição de tecnologias, melhor esclarecimento da regulação da eritropoiese e métodos de transplante aprimorados têm impulsionado a optimismo no desenvolvimento de uma cura definitiva única.
FRANGOUL ET AL.,2020.	Edição do gene CRISPR-Cas9 para células falciformes	Ensaio clínico.	Modificar o gene na intenção de corrigir e curar a anemia falciforme.	Em camundongos imunocomprometidos, havia enxerto equivalente para controle de células editadas por RNA de guia único, e as células persistentes a	Curso clínico de ambos os pacientes apoia nossa conclusão de que CTX001 imita o fenótipo de

	Doença e β-talassemia.			frequência e o padrão de edições permanecem estáveis em 16 semanas, com manutenção da diversidade de edições.	hereditária persistência dos níveis de hemoglobina fetal.
DIAS ET AL.,2013; OLIVEIRA ET AL.,2013; ENUMO ET AL.,2013; PAULA ET AL.,2013.	A dor no cotidiano de cuidadores e crianças com anemia falciforme	Estudo descritivo-comparativo.	Tratar sobre os cuidados que se tem que ter com essas crianças e o que elas passam no seu dia a dia.	Revelaram diferença na percepção de cuidador e criança sobre a caracterização da dor no que se refere ao tipo e à intensidade. As crises de dor interferem, sobretudo, nas atividades do cotidiano. A estratégia de enfrentamento mais utilizada por ambos os grupos centraram-se em pensamentos que envolveram os aspectos negativos da experiência indesejada, o que indica a necessidade de intervenção psicológica com esta população.	Evidências sobre a necessidade no país de estudos empíricos sobre a dor da AF e seu impacto no desenvolvimento infantil, mostrando divergências e convergência na percepção da dor da AF por múltiplos informantes. Além disso, demonstraram a importância do estudo do coping da dor em crianças com doença falciforme e em seus cuidadores. Assim, será possível desenvolver propostas de intervenção que visem um repertório de estratégias de enfrentamento adaptativas de modo a proporcionar uma melhor qualidade de vida a esta população.
NODA ET AL.,2021; MUÑOZ ET AL.,2021; LEYVA ET AL.,2021;	Novos aspectos moleculares e fisiopatológicos da anemia falciforme.	Revisão da literatura.	Expor as atualizações dos aspectos moleculares e fisiopatológicos da anemia falciforme.	Quanto mais rápido a doença for diagnosticada melhor o processo de acompanhamento com esse paciente. Isso se realiza através de exames, onde se revisão da literatura auxilia os eritrocitos sofrendo falcificação e polimerização.	Compreender a complexidade e a multiplicidade de eventos que levam a complicações graves na anemia falciforme e nossa incapacidade de prever o curso clínico de cada caso particular ajudaria a prevenir esses eventos.
ANGUELA; HIGH, 2019.	Entrando na Era Moderna de Terapia de genes.	Revisão Anual da Medicina.	Apresentar a definição, técnicas utilizadas, suas perspectivas e viabilidade do tratamento de patologia genética.	Objetivo desta revisão é fornecer uma estrutura para avaliar os resultados clínicos de estudos, à medida que o número de relatórios continua a aumentar. Com vários candidatos de produto agora passando por uma revisão	O poder e a versatilidade das estratégias de transferência de genes são tais que existem poucas doenças graves entidades para as quais as terapias de transferência de genes não estão em desenvolvimento. O

				<p>regulatória, parece provável que os médicos terão oportunidades crescentes para gerar suas próprias avaliações da terapia genética como uma modalidade de tratamento.</p>	<p>desenvolvimento de novas aulas de terapêutica normalmente leva de duas a três décadas; anticorpos monoclonais e recombinantes proteínas são exemplos recentes. Gene Therapeutics, que entrou em testes clínicos no início de 1990, atravessou o mesmo curso de tempo. Os exemplos de sucesso clínico agora são amplos, e a terapia genética as abordagens tendem a se tornar cada vez mais importantes. Uma questão central é a segurança a longo prazo de transferência de genes, e as agências reguladoras exigiram um acompanhamento de 15 anos para os indivíduos inscritos em muitos ensaios de terapia genética. Realização dos benefícios terapêuticos da medicina molecular moderna dependerá do progresso contínuo na tecnologia de transferência de genes.</p>
FERREIRA, GOUVEA, 2018	Recentes avanços no tratamento da anemia falciforme	Revisão Médica de Minas Gerais	Apresentar a definição, técnicas utilizadas, suas perspectivas e viabilidade do tratamento de patologia genética.	A terapia genética vem sendo estudada há mais de 30 anos e alguns estudos clínicos estão sendo realizados. Novas abordagens moleculares como a edição do genoma, uso de RNA terapêutico e manipulação genética para indução da síntese de hemoglobina fetal emergem como possibilidades para a cura da doença.	A anemia falciforme é a patologia monogênica mais comum e apesar de bem caracterizada sua origem genética e bioquímica, os múltiplos efeitos fisiopatológicos da doença ainda não são bem esclarecidos. O único medicamento aprovado para o tratamento da anemia falciforme é o antineoplásico hidroxureia e, apesar de seu sucesso terapêutico, não é curativo, a menos de ser tóxico para o organismo. O único tratamento

					<p>curativo disponível no momento é o transplante de células tronco hematopoéticas. Entretanto, o limitado número de doadores compatíveis impede sua ampla utilização e mesmo no caso de compatibilidade pode ocorrer rejeição ao transplante.</p> <p>A intensa pesquisa sobre o mecanismo molecular dos eventos fisiopatológicos da anemia falciforme tem permitido a busca por terapias celulares e moleculares curativas. A terapia gênica, em estudo há mais de 30 anos, parece agora oferecer alguma possibilidade de real de tratamento, com vários estudos clínicos em curso. Contudo, além de alguns entraves para sua ampla utilização precisam ser resolvidos, especialmente, a garantia da segurança da técnica. A edição gênica, a utilização de RNA terapêutico e outras manipulações genéticas para aumentar a síntese da HbF emergem como promissoras para o tratamento curativo da anemia falciforme.</p>
LINDEN, 2010.	Terapia gênica: o que é, o que não é e o que será.	Estudo de revisão integrativa de literatura.	Apresentar a definição, técnicas utilizadas, suas perspectivas e viabilidade do tratamento de patologia genética s.	<p>Ao decorrer dos anos as empresas vêm continuamente desenvolvendo novos materiais e procedimentos mais seguros e eficazes, para a viabilização da terapia gênica. Embora ainda em estágio experimental, progressos recentes indicam oportunidades crescentes de investimento pela indústria, bem como justificam a expectativa de que, em alguns casos, essa tecnologia poderá chegar à prática clínica dentro de poucos anos.</p>	<p>Ainda estamos no limiar da história da terapia gênica e tudo o que se fez até hoje são os primeiros passos de uma longa e tortuosa caminhada (Flotte, 2007). Mas já há alguns sucessos pontuais que demonstram a viabilidade de incorporação da terapia gênica à prática médica. Os principais avanços, até o momento, encontram-se nas áreas de hemofilia, alguns tipos de câncer, síndromes de imunodeficiência combinada severa e</p>

certas retinopatias. Tem havido grande progresso no planejamento e na construção de novos vetores mais seguros e eficientes (Räty et al., 2008). Em particular, as respostas imunitárias dos pacientes estão sendo estudadas em profundidade, novos modelos de estudo em animais vêm sendo desenvolvidos e a pesquisa está avançando no sentido de aumentar a segurança dos ensaios clínicos. Os problemas não são triviais. Basta lembrar que, depois de todo o progresso da medicina até os dias de hoje, apesar do sucesso que se obteve em novos tratamentos e na prevenção de tantas doenças nos últimos 150 anos, ainda lutamos contra doenças incuráveis, que desafiam a imaginação e a competência científica e tecnológica de todo o mundo científico. Há, no entanto, razões para otimismo e a expectativa de sucesso das tecnologias de terapia genética vem aumentando gradativamente. Um sinal da viabilidade de aplicação de terapia genética em futuro próximo é o investimento crescente que empresas de biotecnologia estão fazendo no desenvolvimento e na submissão de pedidos de liberação de produtos biológicos relativos à terapia genética. O Brasil preparasse para participar do advento da terapia genética na prática médica. O contingente de cientistas, técnicos, médicos e empresários envolvidos nesse campo no país ainda é minúsculo, comparado aos países do Primeiro Mundo. Mas a

					decisão de investir nessa área, tanto do ponto de vista financeiro quanto do ponto de vista científico e educacional, seguramente terá retorno significativo para a medicina brasileira do século XXI.
LÄKARTIDNIN GE, 2017	Terapia genética - da idéia à realidade	Ensaios clínicos	Tem como objetivo exemplificar a terapia gênicas e suas técnicas	<p>A terapia gênica foi proposta originalmente há 45 anos, mas foi apenas durante os últimos 5 a 10 anos que um benefício clínico significativo foi demonstrado. A terapia gênica é, na maioria dos casos, na forma de vírus modificados que carregam um gene terapêutico. Exemplos de doenças tratadas com sucesso são imunodeficiências primárias e hemofilia. Em alguns casos, a terapia gênica consiste em células geneticamente modificadas, como quando os receptores de抗ígenos químicos são introduzidos de forma estável nos linfócitos T, e são utilizadas como terapia tumoral, principalmente para leucemias. A terapia genética também inclui oligonucleotídeos, que consistem em cerca de 20 nucleotídeos. Vários desses compostos foram aprovados para uso clínico.</p>	<p>Devido a evolução das técnicas utilizadas na edição de genes, o aumento de pesquisas e investimentos relacionado ao tema, fizeram com que a terapia genética deixasse de ser uma utopia, e se transformasse numa realidade clínica.</p>
COLLINS M, THRASHER A. 2015	Terapia gênica: progresso e previsões.	Ensaios clínicos	Mostrar o uso da terapia gênica para melhorar e corrigir o fenótipo.	<p>Até o momento, 40 pacientes têm sido tratados com vetores MLV semelhantes; os melhores resultados são semelhantes a aqueles de transplante de medula óssea compatível, é melhor em termos de custo e reconstituição imunológica do que substituição de enzimas</p>	<p>Para as doenças monogênicas hereditárias mais comuns, como fibrose cística ou distrofias musculares, a terapia gênica eficaz provavelmente continuará sendo um desafio de entrega. Isso ocorre porque ainda não há uma maneira simples de entregar genes para uma proporção</p>

					<p>significativa de células em tecidos, como epitélio ou músculo esquelético. Muitas terapias genéticas comerciais as atividades provavelmente se concentrarão a longo prazo na adição de genes terapia para doenças comuns, como doenças cardíacas ou câncer. Vetores injetáveis também são mais atraentes como meios licenciados, porque podem ser fabricados e distribuídos da maneira convencional. Para tratamentos que requerem ex vivo modificação da célula, no entanto, haverá uma necessidade continuamente para a produção local de células modificadas por genes. Melhor métodos de produção e purificação para vetores vírus são obrigatórios; muitos protocolos atuais são baseados na ampliação de métodos de laboratório de pesquisa</p>
BANK, A. M. D, 2007.	Na estrada para a terapia genética para β-talassemia E anemia de célula falcular	Estudo de revisão integrativa de literatura	Mostrar o uso da terapia genética para melhorar e corrigir o fenótipo.	Os cuidados de suporte são a marca registrada do tratamento atual para as células falciformes anemia, transfusões de sangue e terapia quelante de ferro, o padrão de tratamento para β-talassemia. Drogas que aumentam a produção de hemoglobina fetal têm sido úteis em ambos os transtornos. Quelantes orais de ferro estão sendo avaliada na β-talassemia	<p>O TMO alogênico é a única opção curativa atual para ambas as doenças. Terapia genética de β-globina humana com autotransplante de HSC humano é uma abordagem empolgante para a cura potencial que requer mais avaliação laboratorial e clínica para determinar sua segurança e eficácia.</p>

HOBAN et al, 2016	Tratamento genético de um distúrbio molecular: abordagens de terapia genética à doença falciforme	Estudo de revisão integrativa de literatura	Apresentar a definição, técnicas utilizadas, suas perspectivas e viabilidade do tratamento de patologia genética.	<p>A terapia gênica tem sido proposta como uma cura potencial para a SCD.¹³ A entrega permanente de um cassette de gene corretivo ou anti-falcificação em HSCs de repovoamento de longo prazo poderia permitir a produção de eritrócitos corrigidos para a vida do paciente. Avanços mais recentes na manipulação do genoma humano sugerem que formas não virais de edição do genoma também podem ser terapeuticamente relevantes.</p> <p>Esta revisão se concentrará no desenvolvimento inicial de vetores vírais para terapia gênica SCD via adição de genes, discutir os vetores atuais em detalhes, incluindo aqueles em ensaios clínicos, destacar novas abordagens para a manipulação genética SCD e discutir os principais parâmetros para alcançar o sucesso clínico. Embora fora do escopo deste artigo, é notável que muitas das abordagens discutidas abaixo também são relevantes para a β-talessemia, um distúrbio de produção inadequada de β-globina.</p>	<p>Embora vários dos obstáculos iniciais à terapia genética SCD pareçam ter sido superados, é prudente reconhecer as barreiras que permanecem. A transdução eficiente de HSCs com vetores lentivirais tornou-se cada vez mais confiável, mas os componentes complicados de muitos vetores de globina apresentam desafios únicos para a produção de vírus de alto título capaz de transdução robusta. Ampliar os procedimentos para vários pacientes é um desafio não trivial. A segurança e a eficácia só podem ser estabelecidas por meio de estudos clínicos cuidadosos com acompanhamento prolongado do paciente. Os métodos de engenharia genética estão evoluindo rapidamente e devem facilitar o desenvolvimento de abordagens de terapia genética de “segunda geração” nos próximos anos. Depois de muitos anos de investigação laboratorial pré-clínica, as opções de terapia gênica estão agora no horizonte para pacientes com DF.</p>

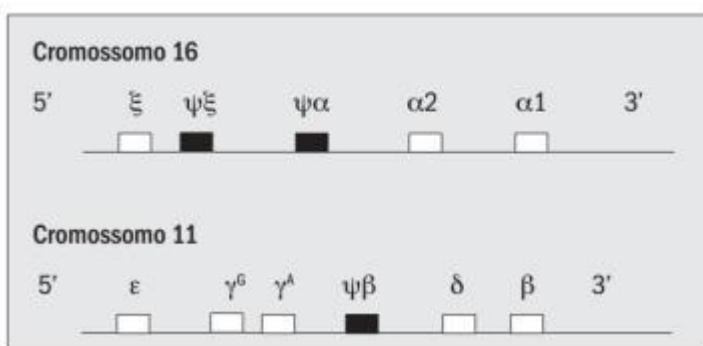
Fonte: Produzidos pelos autores.

3.1 Hemoglobinopatias

As hemoglobinopatias correspondem a uma gama de patologias associadas a disfunções hematológicas hereditárias das hemoglobinas (Hb), caracterizadas por mutações dos genes das globinas humanas, levando a alterações quantitativas da sua síntese ou à formação de hemoglobinas estruturalmente anormais. Essa condição pode ser adquirida por mutação genética passada de pais para filhos, através de um ou dois progenitores de forma dominante ou recessiva, possibilitando a manifestação nas formas homozigóticas apresentada de forma grave e que requer monitoramento; e heterozigóticas onde os sintomas são brandos e até mesmo assintomático em alguns casos da doença. As alterações relacionadas a essa condição, podem levar a disfunções, ocasionando hemólise, policitemia, cianose ou falcização das hemácias (ANTUNES, 2020).

A hemoglobina (Hb) é a proteína diretamente afetada pelas hemoglobinopatias e são constituídas por uma estrutura de quatro cadeias, composta por duas alfas e outras duas com possibilidade de serem (beta, delta ou gama); formada por aminoácidos; grupamento heme (com o auxílio de mitocôndrias); e também por ribossomos específicos para a formação das cadeias de globina. caso o cromossomo 16 acaba sofrendo alteração na sexta posição da cadeia alfa e beta, em alguns casos a mutação ocorre no cromossomo 11 levando a alterações nas suas cadeias beta, delta, gama e epsilon. Essas anomalias em sua estrutura são denominadas hemoglobinas variantes, ocasionando mutação na sua estrutura que leva a quadros de anemias hemolíticas e doenças relacionadas a hemoglobinopatias (NAOUM, 2011).

Figura 1: Complexo do gene α no cromossomo 16 e complexo do gene β no cromossomo 11



Fonte:

<https://www.scielo.br/j/jbpm/a/8rKFQ3fJQMqtDSTrg8pDgbc/?format=pdf&lang=pt>

As alterações relacionadas a essa condição, podem levar a disfunções, ocasionando hemólise, policitemia, cianose ou falcização das hemácias. Dentre as variantes da Hemoglobinopatia estão: HbC, HbF, HbS, talassemia e HbS em que iremos dar ênfase (ANTUNES, 2020).

A hemoglobina C (HbC) é umas das variantes de caráter genético autossômico recessivo, onde as bases de aminoácido da beta globina são trocadas na sexta posição, ácido glutâmico é substituído pela lisina. Em alguns casos os dois genes são expressos denominados heterozigotos SC, apresenta semelhança com HbS, porém os sintomas e crises são amenas (ANTUNES, 2020)

Já a hemoglobina F (HbF) está presente na fase embrionária e fetal, o baixo nível de oxigênio desencadeia alterações visíveis em exames, que identifica a porcentagem de cada fase do desenvolvimento humano. Valores de referências expostos no quadro abaixo (Quadro 2) que exemplifica a evolução de Hb no organismo até o momento em que os eritrócitos atingem a maturação (ANTUNES, 2020).

Quadro 2: Hemoglobinas presentes em cada fase no desenvolvimento humano.

Fase	Hemoglobina e concentração no organismo
Embrionária	HbGower1 (20–40%) Portland (5–20%) HbGower2 (10–20%)
Fetal	HbF (90–95%) HbA1 (5–10%) HbA2 (traços)
Pós-nascimento (até seis meses)	HbF (40–80%) HbA1 (20–60%) HbA2 (traços)
Pós-nascimento (acima de seis meses)	HbF (0–2%) HbA1 (95–98%) HbA2 (2–3,5%)

Fonte: Adaptado de Lorenzi (2006) e Assis e Pugliese (2012).

Como evidenciado acima, a concentração de hemoglobinas oscila nos eritrócitos ao longo do tempo durante as diferentes fases do organismo para adequação a função de transporte de oxigênio (O_2) e dióxido de carbono (CO_2) indispensável a cada etapa (ANTUNES, 2020).

A hemoglobinopatia mais comum é HbS, conhecida popularmente como anemia falciforme. Sua formação ocorre devido a uma mutação nas bases nitrogenadas do DNA timina por adenina, desencadeando erro no aminoácido beta na posição 6 onde o ácido glutâmico é substituído por valina. Essa alteração resulta na falta de oxigenação da hemoglobina levando a um processo simultâneo constante de oxigenação e desoxigenação, fazendo com que perca seu formato e sua função, tornando-se alongada e com filamento na sua ponta, passando a ser denominada drepanocitos (HbS) e consequentemente ocorrendo a desidratação. Podemos classificar ainda a AF em homozigótica em que há prevalência do alelo (HbSS) no gene, evidenciando a patologia; e como heterozigótica, quando o portador possui gene com traço falciforme (HbAS), mas não apresenta deformação nos eritrócitos no sangue circulantes (ANTUNES, 2020). Conforme descrição do Quadro 3.

Quadro 3. O quadro abaixo especifica os alelos correspondentes as características de um indivíduo normal (AA), com traço falciforme (AS) e com anemia falciforme (SS)

SS	S	S
AS		
A	AS	AS
S	SS	SS

Quadro Punnett: Tabela HbS / HbAS

SS: Individuo com a AF

AS: Individuo com o traço AF

Resultado:

50% da probabilidade de nascer com AF

50% da probabilidade nascer com traço AF

AA	A	A
AS		
A	A	A

S	AS	AS
---	----	----

Tabela HbAS / HbA

Fonte: Produzidos pelos autores.

AA: Individuo normal

AS: individuo com traço AF

Resultado:

50% da probabilidade de nascer sem o gene

50% da probabilidade de nascer com traço

Os primeiros casos relatados ocorreram em continente africano, por conta da Malária que era uma doença com alta taxa de mortalidade e através da seleção natural ocorreu essa mutação genética, pois a anemia falciforme faz com que aconteça o bloqueio do parasita (RUSSELL, 2013). Vale ressaltar, que essa patologia está entre o grupo de hemoglobinopatias mais comuns em todo o mundo. Entretanto, existe também outras variantes que afetam diversas cadeias globinas (ANTUNES, 2020).

A AF é uma das hemoglobinopatias mais comuns e tem como particularidade a deformação dos glóbulos vermelhos. Essa característica atribuída se justifica por se tratar de uma alteração genética causada por troca de bases nitrogenadas do DNA levando a substituição na sexta posição da cadeia B hemoglobina que leva a polimerização da hemoglobina desoxigenada (células que transporta oxigênio) que fazendo com que o oxigênio não chegue nos tecidos causando pequenas isquemias. Esse formato que as hemácias ganham atrapalham a passagem do sangue na corrente sanguínea, formando vaso-oclusão as hemácias começam aderir ao endotélio vascular ocorrendo inchaço de alguns membros, órgãos fazendo com que a pessoa sinta muita dor, palidez e até mesmo feridas pelo corpo (ALMEIDA, 2016). É uma doença hereditária, onde um dos portadores possuem o gene AS, quando os dois possuem o gene a porcentagem do filho nascer com a anomalia acaba aumentando. A forma mais comum de identificar a doença é através do teste do pezinho, conduzida em crianças recém-nascidas no qual consegue identificar a presença da hemoglobina S, outra forma de comprovar a anemia é através da dosagem da bilirrubina e/ou perceber que a hemoglobina está abaixo dos valores de referências através do hemograma (CARDOSO et al., 2021).

Os sintomas e sinais são manifestados desde infância, podem ser crônicos ou agudos, a maioria dessas crianças sentem dores intensas, dores que são imprevisíveis, onde atrapalham até mesmo o psicológico dessa criança e onde exigem dos pais um maior cuidado e percepção devido à idade que começa os primeiros sintomas (DIAS et al., 2013). Geralmente essas dores são na barriga e tórax. Outras doenças que podem ser desencadeadas: golpe, hipertensão, cardiomiopatia

isquêmica, hipertensão pulmonar, doença renal crônica, doenças do fígado e da vesícula biliar, distúrbios esplênicos (que aumentam o risco de infecção), anormalidades esqueléticas e danos nas articulações, retinopatias, doença venosa crônica dos membros inferiores (secundária à hipertensão venosa e / ou trombose venosa profunda), eritema acral (síndrome mão-pé), priapismo, crescimento retardado e puberdade retardada (MORIN, 2018).

3.3 Sintomas da presença da HbS

A presença da HbS, quando polimerizada de forma excessiva, leva ao surgimento de variados sintomas, tais como a febre, que pode ser resultado de uma isquemia tecidual ou processo infeccioso onde proteínas que mandam mensagem para o hipotálamo em sinal de alerta, em crianças geralmente pode ser o único sintoma perceptível; suas crises dolorosas são desencadeadas pela resposta inflamatória, para cada portador a intensidade dessa dor é de uma forma, mas as crises duram em torno de 5 a 10 minutos; o sequestro esplênico é o processo decorrente da vasoclusão dores fortes provocada pelo bloqueio do fluxo sanguíneo e pela falta de oxigenação nos tecidos podendo conduzindo a dores abdominais, fadiga intensa e palidez a qual se pode causar um choque hipovolêmico; A icterícia começa a ser observada em consequência da destruição rápida de hemácias e fígado não consegue metabolizar; atraso no crescimento e desenvolvimento devido a vários fatores como função endócrina afetando a produção de testosterona; nutrição com ácido fólico para ajudar a parte neurológica, taxa metabólica basal grande gasto energético cardiovascular e níveis elevados de hemoglobina fetal; pulmonares o eritrócito de HbS que são desoxigenados chagam ao pulmão levando a uma vasoclusão pulmonar; renais casos de hematúrias; priapismo uma ereção dolorosa e prolongada do pênis podendo estar relacionada com desidratação e hipoventilação evento que ocorre rigidez nos glóbulos vermelhos devido à falta de flexibilidade e redução do pH nos glóbulos vermelhos consequentemente ocorrendo vasoclusão (SILVA, 2015).

3.4 Identificação laboratorial da HbS

Existem várias técnicas para detectar a presença da mutação nos glóbulos vermelhos, dentre elas as principais são; o teste do pezinho que é um exame realizado no 3 a 7º dia de vida, onde é feito a punção nas regiões laterais do calcanhar coletando uma pequena quantidade de sangue. Pois neste período ele recebe proteínas que provem do leite materno, o que evita a fenilcetonúria que é ocasionada devido ao erro de processamento do metabolismo em relação aos aminoácidos

que é o caso da fenilalanina (ASSIS; PUGLIESE, 2012); teste de falcização: consiste no uso de reagentes redutores que fazem o papel de desoxigenação de HbS por método qualitativo sendo assim realiza uma observação de que consegue detectar a presença ou ausência de HbS no meio do teste os fatores que se observa são: proporção entre os volumes de sangue, reagente redutor, falha na vedação do microambiente e tempo de reação (NAUOM, 2011); teste de solubilidade: é a comparação da HbA com HbS onde é colocado ditionito de sódio, analisando se o sangue indica turvação ou transparência. Em caso de turvação o paciente é reagente ao HbS, diferente da HbA que não reage com analito (NAUOM, 2011); O hemograma: avalia a parte quantitativa e qualitativa dos glóbulos vermelhos e brancos do sangue onde é possível realizar a contagem dos eritrócitos e a contagem global dos leucócitos a concentração de hemoglobina com isso o profissional consegue identificar doenças relacionadas aos eritrócitos. Analisando a morfologia as hemácias. (NAUOM, 2011); cromatografia líquida de alta pressão HPLC: é um exame quantitativo onde as moléculas com cargas positivas são absorvidas na fase estacionária na coluna cromatográfica, com isso as partículas absorvidas são arrastadas através de um líquido para fase móvel onde tem alta concentração de cátions. Visa detectar as hemoglobinopatias variantes, portanto deve ser utilizado com monitoramento de eletroforeses alcalina e ácida, para evitar o aumento de HbA2 que leva ao falso negativo na presença de HbS; a eletroforese de focalização isoelétrica (EFI): é um método usado para a separação de algumas classes moleculares (proteínas, enzimas, DNA, peptídeos, etc.), através das cargas elétricas, fazendo com que a proteína seja atraída para sua posição correspondente, seja ela ânodo ou cátodo no gel de agarose. A classe molecular é definida onde a maior concentração atinge o pH definido (NAUOM, 2011).

3.5 Tratamento da HbS

A intervenção do tratamento nos pacientes acometidos pela AF, são caracterizadas como medidas terapêuticas, uma vez que, se baseiam conforme os estágios da patologia (aguda ou crônica) e das manifestações clínicas do doente. Vale ressaltar que, em decorrência dessa condição, os pacientes acometidos desenvolvem diversas outras doenças e precisam de tratamentos específicos para tratá-las (FERREIRA, 2016).

De acordo com a fase aguda da doença, são tratados os sintomas como: crises torácicas (realizando inalação de oxigênio e espirometria incentivada); porém se ocorrer a piora do quadro pode ser necessário a transfusão sanguínea. Já no estágio crônico da doença, são aplicadas medidas preventivas, que são utilizadas para amenizar os sintomas provenientes da hemólise e vaso-oclusão. Ademais medidas como hidratação, o uso de penicilina, vacinação conjugada meningocócica, vacina com polissacarídeo, pneumocócico, entre outras vacinas recomendadas; a

transfusão sanguínea crônica e hidroxiureia para prevenção de acidente vascular cerebral complementam as medidas profiláticas existentes. No entanto, vale enfatizar que a transfusão sanguínea mensal pode trazer sequelas, sobretudo, no fígado e no coração, devido à sobrecarga de ferro. Destaca-se ainda que nas crises severas em que ocorre sequestro esplênico e acidente vascular cerebral, podem conduzir a hemorragias e nesses casos deve-se realizar a transfusão sanguínea, mas quando se trata somente do risco de AVC é feito uma introdução de glicocorticoides. Nas crises dolorosas e infecções bacterianas, é possível utilizar meios paliativos como a utilização de anti-inflamatório (não esteroidais e alguns opioides), hidratação, aquecimento do ambiente e corpo do paciente. O uso de Niclosan, Ciklavit são opções de anti-inflamatórios que amenizam as crises dolorosas dos pacientes. Contudo, o único tratamento medicamentoso direcionado a AF aprovado pela FDA é a hidroxiureia (HU; hidroxicarbamida ou Hydrea®) e por ela é possível a alteração da enzima ribonucleotídeo redutase, ocasionando no atraso da fase S do ciclo celular e por mecanismo ainda não esclarecido aumenta a produção de HbF (FERREIRA, 2016).

Contudo, a única opção curativa disponível para a anemia falciforme é o transplante de células tronco hematopoiéticas. Esse tipo de tratamento atinge as células produzidas na medula óssea e pode ser encontrada em maior quantidade também no cordão umbilical. Para a realização desse procedimento, é necessário a preparação para o transplante denominada, condicionamento, onde este paciente recebe doses de quimioterapia, às vezes associadas à radioterapia, para ter uma diminuição das células doentes. O processo de transplante consiste em transplante autólogo que são retiradas do próprio paciente e transplante alogênico retirada de outro paciente, por uma pulsão sanguínea, em que são inseridas nesse paciente e seguem caminho até a medula óssea desse transplantado até que se instalam naquele local realizando a produção de novas células sanguíneas normais. porém pode levar a sérias complicações decorrentes da terapia celular (rejeição ao transplante e o risco de desenvolvimento de câncer (BARRIGA, et al., 2012). Todavia, encontra-se em andamento pesquisas de um método promissor que contribuirá no tratamento e na cura de diversas hemoglobinopatias incluindo patologias monogênicas (HbS); essa técnica corresponde a terapia gênica (FERREIRA, 2016).

3.6 Terapia Gênica

O primórdio da terapia gênica ocorreu em meados da década de 1960 e a partir desse momento se pensou na hipótese de utilizar um vírus para levar genes modificados a pessoas acometidas de patologias genéticas com intuito curativo (LINDEN, 2010). Em 1971, antes mesmo de terem realizado a codificação do genoma humano, foi realizado um estudo publicado na revista *in*

Science que descreveu os futuros desafios da terapia gênica clínica. Dentre eles estavam evidenciados, a produção de vetores virais seguros, que garantisse a entrega eficientes do gene na célula alvo e a estimativa da quantidade de células adequadas do paciente para reparar a falha genética herdada. (COLLINS; THRASHER, 2015). Já em 1989 iniciou a substituição de genes clinicamente, mas só houve um notável progresso terapêutico onze anos depois, através de comprovação de casos em que pacientes com imunodeficiência combinada obtiveram resultados satisfatórios posteriormente a realização do tratamento com a terapia gênica. No entanto, naquela época devido à falta de métodos seguros, a produção de vetores para a realização do tratamento resultou em uma leucemia nos pacientes decorrente da estimulação de fatores endógenos no organismo (LÄKARTIDNINGEN, 2017).

Segundo Lakartidningen, (2017) a terapia gênica é definida como um tratamento que possibilita a modificação, a introdução ou remoção do material genético através de DNA ou RNA inseridos na célula do paciente. E tem como objetivo a reparação, a modificação ou o aumento da expressão de um gene. Na intervenção dessa técnica o material genético do paciente é alterado e transferido para as células do portador da doença, remodelando dessa forma a produção da proteína com o intuito de promover o aumento da sua expressão gênica, sendo assim essa alteração é possível através da realização de técnicas de adição de gene da beta globina, aumento da hemoglobina fetal, correção da sequência da beta globina utilizando técnicas de edição de gene para as alcançar os resultados desejados (FERREIRA, GOUVÉA, 2018). Dessa maneira contribui no combate de patologias, através da modificação ou produção de novas proteínas, tornando-se possível, a melhora; a inibição do progresso da doença ou até mesmo a cura. Já a classificação da terapia gênica é estabelecida pelo tipo de patologia, ou seja, o que levou a ter o distúrbio; por tipo de transportador (vetores), responsáveis por carregar o material genético até a célula alvo (integrado ou não integrado); e de qual forma esse vetor será aplicado no paciente, através da técnica *In vivo* ou *ex vivo* (ANGUELA, HIGH 2017).

Como visto anteriormente, para ser possível a execução desse tratamento é crucial a utilização de vetores para o transporte de genes terapêuticos, dado que, a introdução de gene puro por intervenção da membrana plasmática em células afetadas é incomum. Sendo assim, o vetor transportará o DNA modificado até a célula alvo, propiciando a entrada do material genético na célula eucariótica. Existem três categorias de pesquisas de vetores em avanço: os plasmídeos, os vetores nano estruturados os vetores virais (LINDEN, 2010).

Os plasmídeos são vetores que utilizam de métodos de DNA recombinante para inserir o gene modificado saudável na célula, mas para conseguirem romper a membrana celular é necessário a aplicação de choques elétricos ou substâncias que fragilizam quimicamente a superfície celular. Portanto, são considerados eficientes na expressão de genes e indicados em casos de aplicação de

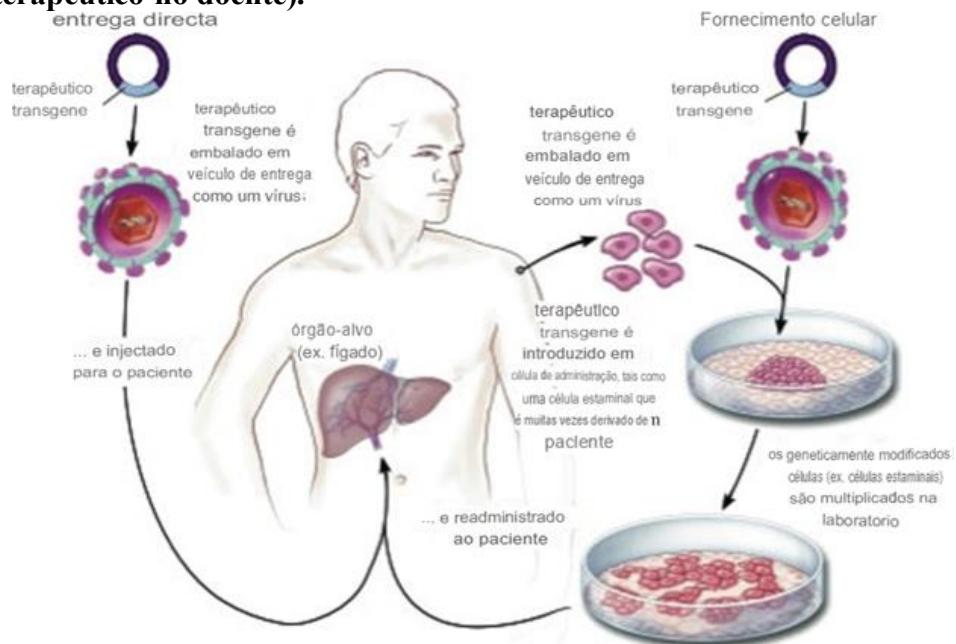
injeções intramusculares como vacinas de DNA ou no músculo cardíaco; ou na transferência de um gene sadio utilizando dois tipos de terapia (celular e a gênica). No entanto, possuem limitação na sua indicação, pois é improvável sua administração em órgãos de difícil acesso (LINDEN, 2010).

Existem também, vetores nanoestruturados constituídos por polímeros que acoplam no gene liberando a sua carga, isso pode acontecer, quando se deslocam para dentro da célula ou quando ultrapassam a membrana celular introduzindo o seu conteúdo, através de vesículas de lipídios. Possuem a vantagem de determinar em qual categoria de célula o gene terapêutico poderá ser inserido e até mesmo viabilizar a mobilização do transportador de um local do corpo para outro, ou seja, da corrente sanguínea para o encéfalo. Além de ser um procedimento menos invasivo sendo executado através de injeções intramusculares (LINDEN, 2010).

Já os vetores virais são os mais aplicados na terapia gênica, devido à capacidade de introduzir o material genético naturalmente na célula. Salienta-se ainda que para ocorrer essa transferência segura, é necessário a manipulação do vírus retirando seu gene viral para a inserção de um gene terapêutico. Dentre as categorias de vírus utilizados estão: retroviral, lentiviral adenoviral e viral adeno-associado (AAV). E podem ser caracterizados de duas maneiras: integrantes, em que ocorre com a transferência do DNA em células-tronco estando em processo mitótico, possibilitando a replicação desse gene nas células filhas e não integrantes em que corresponde a inserção do gene em células que não possuem a função mitótica, garantindo a expressão do gene a longo prazo (ANGUELA, HIGH 2017).

A realização da terapia gênica pode ser através de duas técnicas: In vivo onde o gene modificado será transferido diretamente no paciente ou na modalidade Ex vivo, em que há a retirada da célula defeituosa do doente, através da punção da medula óssea e do sangue periférico (quando estas são mobilizadas da medula óssea por meio de medicamento), e também do sangue de cordão umbilical e placentário. E após a correção do material genético, ele é reintroduzido no corpo do mesmo (Figura 1). A abordagem in vivo, compreende ainda na fabricação e na reproduzibilidade de estruturas específicas como lipídios ou polímeros para carrear o DNA até a célula alvo. No entanto, ainda não atingiu resultados que garantam a sua efetividade na capacidade de absorção e da expressão gênica suficientes para o tratamento. Já o tratamento ex vivo, pode ser utilizado nos casos de patologias genéticas, em que é necessário incluir no processo as células-tronco hematopoiéticas (HSCs), pois elas possuem a capacidade de se auto-renovar, se diferenciar, e principalmente se multiplicar, garantindo dessa forma a permanência do gene por mais tempo no organismo. Entretanto, é necessário que o gene terapêutico seja introduzido de forma estável ao genoma da célula alvo para que quando ocorra a replicação da célula, aconteça a transferência para a nova linhagem celular (ANGUELA, HIGH 2017) (ANVISA, 2021).

Figura 2. Técnicas: *In vivo* (entrega direta do gene terapêutico no paciente); e *Ex vivo* (retirada das células alteradas do paciente, realização da correção do gene e reintrodução do gene terapêutico no doente).



Contudo, o emprego desse tratamento pode ser realizado em diversas patologias, como nos casos de infecções, aumentando a expressão de gene de anticorpos (engenharia de células imunológicas); na produção de vetores virais para a constituição de vacinas; no tratamento do mal de Parkinson (induzindo as enzimas produtoras de dopamina); no câncer (inserção de enzimas em células tumorais que causam morte celular), e em hemofilia (introdução de gene sadio nas células) (LINDEN, 2010). Entretanto, na anemia falciforme (HbS) o mais indicado é a utilização da técnica *ex vivo*, uma vez que tem como objetivo o transplante de células hematopoiéticas. Essas células tem como função originar toda a linhagem de células sanguíneas e possuem como atribuição realizar diversas divisões celulares, resultando na auto-renovação ou se diferenciando em um tipo específico de célula. Contudo, é necessário que o gene terapêutico seja integrado de forma estável ao genoma hospedeiro para estar presente em todas as células filhas. Enfim, AF faz parte do grupo de hemoglobinopatias e que necessitam de transdução mais extensas para atingirem o HSCs com efeito terapêutico (ANGUELA, HIGH 2017).

3.6.1 Aplicação da terapia gênica na AF (HbS)

A partir da descoberta da técnica da terapia gênica, foram produzidos diversos estudos que contemplavam o seu desenvolvimento e seu uso clínico relacionado a AF. As bases dessas pesquisas foram direcionadas na busca de expressão e regulação dos genes do grupamento β

globina, porém mesmo com todos os esforços exercidos, ainda há necessidade de progresso no âmbito de estratégias eficientes para a transferência e a expressão duradoura do gene introduzido. (FERREIRA, GOUVÉA, 2018).

Para contribuir efetivamente em resultados curativos, a metodologia realizada na execução dessa técnica possui algumas variações, que se diferenciam do tipo de alteração que pode ser feita nas células. Dentre as formas utilizadas na aplicação dessa técnica estão: adição de genes da globina e tecnologias de edição de genoma para diminuir os sintomas da SCD; aumento da HbF ou corrigindo a sequência da β -globina, são delineadas manipulação da célula terapêutica no transplante de células-tronco autólogo, para ser alcançado a completa cura (BANK; MD, 2007).

3.6.2 Adição de genes da globina

Nos primórdios das pesquisas genéticas, já era observado a transferência de genes terapêuticos para a correção da globina através de transplante de células tronco-hematopoiéticas. As investigações introdutórias realizadas revelaram uma característica importante dos reguladores do gene da globina, eles podem ser aplicados na condução da expressão de nível elevado, exceto nos casos de eritróide de um transgene de globina. Com o passar dos anos houve uma substituição dos vetores utilizados nessa técnica, inicialmente utilizava-se carreadores γ -retrovirais, mas após observarem que os vetores lentivirais oferecem resultados clínicos favoráveis para um grupo maior de patologias genéticas e principalmente sem demonstração de toxicidade por inserção, não foi difícil fazer a troca (FERREIRA, 2016).

Desta forma, ensaios clínicos estão em andamento e tem se demonstrado efetivo, com o manuseio de lentivírus como transportador do gene β globina humano viável ou γ globina para a sua inserção nas CTH, sem a precisão de realizar terapia celular. Vale ressaltar que, o gene β globina aplicado nessa abordagem possui mutação, possuindo assim características que envolve a ligação ao O₂ e inibição da polimerização da HbS. Outra alternativa de pesquisa é a utilização de genes híbridos β/γ e apenas γ , com intuito de prevenir a polimerização da HbS através da HbF. Contudo esse método necessita de quimioterapia ablativa da MO e avanços nos seus parâmetros estabelecidos visando a eficiência na transferência e expressão a longo prazo do gene inserido, além de não poder desconsiderar o risco de variações maléficas. Salienta-se ainda que após a técnica de edição de gene for devidamente ajustada poderá oferecer alto potencial também para a edição de células do cordão umbilical autólogo dos pacientes que já nascerem com AF, possibilitando a cura posteriormente ao nascimento. Porém é válido destacar que a terapia gênica para essa finalidade (*in útero*) ainda precisa de muitos estudos para ser alcançado. Além de possuir diversos riscos como levar a mutações em alvos diferentes do planejado, podendo ter danos

irreparáveis, sendo assim, ainda necessita de muitos testes pré-clínicos para garantir a segurança desse procedimento (FERREIRA, GOUVÊA, 2018).

3.6.3 Tecnologias de edição

A revolução da edição de genes, possibilitou a expansão de novas tecnologias, viabilizando avanços memoráveis no âmbito da biologia molecular. A alteração de genes pode ser definida, como um conjunto de ferramentas que propicia modificações permanentes por meio de clivagem em moléculas de DNA. Esse processo é realizado através de fatores de ligações (endonucleases) que são programadas para alcançar sequências de genes alvo e com isso amplificar as possibilidades de terapias existentes (HOBAN et al, 2016).

Através das nucleases é possível realizar quebras de fitas duplas direcionadas (DSBs) em genomas de mamíferos, executando inserções e exclusões (indels) por união final imprecisa no local de desmembramento (extremidade não homóloga que se junta a NHEJ) e, na presença de DNA de doador extracromossômico de consequências, permitem o reparo homólogo modelado concorrente reparo dirigido por homologia (HDR). Podemos usar como exemplo a técnica CRISPR, Cas9 em que a endonuclease é guiada ao sítio genômico específico por RNA guia e podem direcionar modificações bioquímicas para loci de genes específicos. Vale ressaltar ainda que cada uma das principais classes de resultados de edição de genoma - NHEJ, HDR e caminho relacionado a HDR formas (deleções mediadas por microhomologia, normalmente 5-50 pares de bases de comprimento) - podem potencialmente ser explorado na terapia da SCD. Contudo, em oposição da técnica de adição de genes, a atuação da engenharia de genoma necessita somente de uma intervenção *ex vivo* transitória e não tem efeito permanente de inserção de DNA incomum no genoma (HOBAN et al, 2016) .

3.6.4 Aumento da HbF

Estudos da aplicação da terapia gênica também foram feitos com o objetivo de sintetizar e aumentar a HbF. E durante essa pesquisa, foi descoberto que o gene BCL11A codifica uma proteína repressora da expressão do gene γ globina, essencial para a produção da HbF. Essa proteína pode ser encontrada nas hemárias na região intergênica, LCR e sequências entre os genes HBG1 (gama 1) e HBD (delta), nos linfócitos B e nas células dendríticas, participando dessa forma do sistema imune. Com isso a inativação por completo desse gene em CTH pode afetar e prejudicar diretamente o sistema de defesa do organismo (FERREIRA, GOUVÊA, 2018).

Todavia o reconhecimento de uma região intrônica exata das hemácias, intensificadora de BCL11A e a descoberta de variantes comuns com mutação nessa região que leva à síntese de HbF, mesmo no adulto, apontaram que a interrupção dessa região acentuadora poderia diminuir a atividade de BCL11A e aumentar a síntese de HbF. Pesquisas ainda evidenciaram que a clivagem simples nessa região foi eficaz para estimular a produção de HbF em testes de animais e cultura celular. Outra possibilidade de knockout de BCL11A ocorreria através da diminuição da expressão gênica utilizando RNA de interferência. Nesse caso um novo vetor, RNA curto em grampo (shRNA), e a arquitetura de um miRNA, recentemente testado demonstrou potente inibição da expressão do gene BCL11A em cultura de células precursoras de hemácias humanas. Entretanto, para que essa técnica seja realizada com sucesso, é fundamental que a integração do vetor e da expressão seja sustentável (FERREIRA, GOUVÊA, 2018).

3.6.5 Correção da sequência da beta globina

A partir dessa técnica, as regiões com alterações mutagênicas, são substituídas pela sequência devida, através de um conjunto de procedimentos, nos quais a nuclease atua em uma das sequências específicas do DNA, para alterá-la, seguido de síntese (FERREIRA, GOUVÊA, 2018). Porém, quando nos referimos a correção da sequência da mutação da AF (A > T, resultando em Glu6 > Val) em que possuem na sua constituição alelos idênticos e predominantes (SS), seria necessário somente a correção de um dos alelos, pois dessa forma transformaria a condição em apenas em traço falciforme, evitando com isso a expressão dessa patologia. Os primeiros passos da eficácia no reparo dos genes foram considerados pequenos, no entanto, com a revolução das tecnologias de edição de gene, resultados relevantes logo foram alcançados, pois proporcionou um cuidado minucioso das circunstâncias experimentais e frequências pertinentes do reparo do gene (DEMIRCI et al., 2018).

O reparo da modificação do gene da globina é obtido através de várias nucleases, abrangendo dedo-de-zinco (ZFN) ZFN nucleases efetoras semelhantes a ativadores de transcrição (TALENs), meganucleases e CRISPR (repetições palindrômicas regularmente interespacadas agrupadas) associada à nuclease Cas9 (CRISPR-Cas9) que possuem moléculas programáveis ligantes de DNA, que permitem a introdução de quebras da dupla fita de DNA em sítios específicos do genoma, e doador de DNA modelos, incluindo oligonucleotídeos de fita simples e vírus adeno-associados. Entretanto, em doenças como β-talassemia e outras doenças genéticas essa técnica não se aplica, uma vez que, os genótipos estão implícitos a fenótipos semelhantes (DEMIRCI et al., 2018; FERREIRA, GOUVÊA, 2018).

Com a quebra de fita dupla direcionadas realizadas por nucleases, antecedem o reparo dirigido por homologia (HDR), os alelos em que ocorre a junção de extremidade não homóloga (NHEJ) são inexatos retratando respostas que limitam a retificação geral. Sendo assim, quando acontece essa lacuna resulta na conversão do gene da globina em alelo β -talassêmico, dificultando desta forma o ajuste necessário. Ademais, as células-tronco hematopoéticas, são extensamente inertes, corroboram com a junção de extremidade não homóloga às custas de reparo dirigido por homologia ainda mais do que os progenitores. Vale ressaltar, que a inibição do reparo de NHEJ ou a excitação do ciclo celular contribuem para reparo dirigido por homologia, entretanto, ainda é desconhecido os efeitos do repovoamento a longo prazo e o acúmulo de danos ao DNA. A técnica de edição de bases é considerada positiva, uma vez que, elimina a possibilidade de erros relacionados a quebra de fitas duplas direcionadas. Atualmente, não é possível fazer a troca de bases de T > A que corrigiria a mutação da AF. Uma segunda opção utilizada para a correção de alterações livre de quebra de fita dupla é a aplicação de ácidos nucleicos de peptídeo, em que a sequência determinada ativa o ajuste modelado de um doador de DNA. Todavia, a pequena eficácia do reparo deste mecanismo limita seu emprego clinicamente (FERREIRA, 2016). Em princípio esta técnica utiliza intervenção *ex vivo*, depende da introdução de nucleasse e do DNA molde para reparo, evitando a inserção de DNA estrangeiro no genoma, que traz o risco de oncogênese, como os vetores virais. Cabe ressaltar ainda que a correção direta do genoma tem a vantagem de preservar os mecanismos regulatórios endógenos do gene β globina, para que haja a produção estequiométrica de cadeias globina durante a eritropoiese (DEMIRCI et al., 2018; FERREIRA, GOUVÉA, 2018).

3.6.6 Ensaios clínicos da anemia falciforme

Em 2018 foi realizado por (DEMIRCI et al., 2018) uma pesquisa através do *ClinicalTrials.gov* que constata alguns estudos que estão em andamento utilizando a terapia genética como tratamento para a anemia falciforme conforme Tabela 1. Os estudos tiveram como base a modificação da sequência da β -globina com o objetivo de elevar a atividade anti-falciforme, considerando a verificação de menos polimerização para $\alpha 2\beta$ S γ em relação a $\alpha 2\beta$ S β . Pesquisas cinéticas comprovaram assim que, a remodelação dos genes terapêuticos T87 em Q87 é o principal fator responsável pela maior parte da atividade inibidora da HbS, entre outras 10 diferenças de aminoácidos entre as sequências β e γ -globina. Constatou-se ainda, que a alteração na sequência da β -globina [β A (T87Q)] contribuiu com fortes evidências de propriedades anti-falciformes, tão eficientes quanto a γ -globina na reversão do fenótipo em dois modelos de camundongos SCD relevantes, BERK e SAD. Outra vantagem observada é que a globina modificada pode ser

desmembrada de outras globinas através da análise técnica de cromatografia líquida de alta performance em fase reversa, o que a torna mais conveniente em ensaios clínicos. (DEMIRCI et al., 2018).

Em outra pesquisa clínica feita, mas na fase 1/2 multicêntrico para adultos com SCD grave foram descritos e atualizados há pouco tempo demonstra que a combinação de administração de um pré-tratamento utilizando transfusão sanguínea; juntamente com a coleta de células CD34 mais as condições de fabricação melhoradas; adicionadas aos avanços na mieloablação resultaram em números de cópias de vetores de sangue periférico mais elevados (VCNs) em pacientes com SCD (HGB-206, Identificador ClinicalTrials.gov: NCT02140554) atingindo dessa forma a faixa terapêutica esperada. Ademais, foi adicionado nesse tratamento a administração de plerixafor, um medicamento antagonista do receptor CXCR4, para conduzir a mobilização de CD34 +, favorecendo uma coleta de células menos invasivas comparadas à coleta de medula óssea mobilização mais segura em comparação com G-CSF um tipo de tratamento que historicamente tem levado a complicações com risco de vida quando usado em indivíduos com SCD (DEMIRCI et al., 2018).

Já no ensaio clínico HGB-205 publicado recentemente, foi evidenciado claramente que um paciente com doença falciforme grave não relatou complicações da patologia pelo período de até dois anos e meio, após o tratamento com LentiGlobin. Logo, apresentava Hb estável (12,4 g / dL), β A (T87Q) (6,1 g) / dL e níveis de VCN (2,3) no sangue periférico. Nesse caso o paciente foi submetido ao transplante de células autólogas CD34 + transduzidas com o vetor LentiGlobin BB305 e demonstrou o regresso de marcadores de hemólise e teve níveis de hemoglobina estáveis, semelhantes aos observados no traço falciforme (SCT) por 15 meses de acompanhamento, o que comprova a consistência da expressão de β A (T87Q) e a efetividade do tratamento estabelecido. Entretanto, a pesar dos resultados serem bastante animadores, os ensaios clínicos que apostam nessa abordagem de vetores, ainda não concluíram os seus estudos. Desta forma, é fundamental que essa pesquisa seja acompanhada por um período maior de tempo, para que seja garantido a segurança e a eficácia dos pacientes que tiverem acesso a esse tratamento (DEMIRCI et al., 2018).

Também foram observados numa pesquisa que a modificação em β 16, glicina em ácido aspártico, possui uma vantagem competitiva sobre a globina falciforme (β S, HbS) para a ligação à cadeia α , e modificação em β 22, ácido glutâmico para alanina, aumenta parcialmente a interação axial com histidina α 20, duplo mutante (β AS2; T87Q e E22A) e também foram desenvolvidas variantes de β -globina de mutante triplo (β AS3; T87Q, E22A e G16D). Essas modificações fornecem propriedades anti-falciformes maiores do que a variante modificada apenas com T87Q e comparáveis à globina fetal. Em um modelo semelhante a SCD, o transplante de células-tronco da medula óssea transduzidas com lentivírus SIN carregando β AS3 reverteu a fisiologia dos

glóbulos vermelhos e os sintomas clínicos de SCD. Com base nesses dados encorajadores in vitro e in vivo, esta variante está agora sendo testada em um ensaio clínico (Identificador no: NCT02247843) (DEMIRCI et al., 2018).

Quadro 4. Ensaios clínicos abertos de terapia gênica para a Anemia Falciforme

Identificador ClinicalTrials.gov	Título oficial	Gene Terapêutico	Elegibil idade de idade / fase	Status	Patroci- nador
NCT02186418	Transferência de genes para pacientes com doença falciforme usando um vetor de lentivírus gama globina: um estudo piloto de fase I / II de rótulo aberto	γ-globina	18-35 / Fase I / II	Recru- tament o	Children' s Hospital Medical Center, Cincinna ti
NCT02247843	Estudo de pesquisa clínica de transplante autólogo de medula óssea para doença falciforme (SCD) usando células CD34 + de medula óssea modificadas com o vetor lentiviral Lenti / βAS3-FB	βAS3-FB (β- globina anti- falcificação)	18 e mais velhos / Fase I	Recruti- amento	Donald B. Kohn, MD (Universi- dade da Califórni- a, Los Angeles)
NCT02193191	Ensaio de segurança e eficácia de escalonamento de Plerixafor para mobilização de células progenitoras hematopoéticas CD34 + e	β-globina	18-65 / Fase I	Recru- tament o	Memoria l Sloan Ketterin g Cancer Center

	avaliação da transferência do gene da globina em pacientes com doença falciforme				
NCT02140554	Um estudo de fase 1 que avalia a terapia gênica por transplante de células-tronco CD34 + autólogas transduzidas ex vivo com o vetor lentiviral LentiGlobin BB305 em indivíduos com doença falciforme grave	T87Q (antissickling β-globina)	18 e mais velhos / Fase I	Recrutamento	Bluebird Bio
NCT02633943	Acompanhamento de longo prazo de indivíduos com hemoglobinopatias tratadas com terapia gênica ex vivo usando células-tronco hematopoéticas autólogas transduzidas com um vetor lentiviral	T87Q (antissickling β-globina)	5-50 / NA	Inscrever-se por convite	Bluebird Bio
NCT02151526	Estudo aberto de fase 1/2 que avalia a segurança e eficácia da terapia gênica de beta-hemoglobinopatias (doença falciforme e betatalassemia maior) por transplante de células-tronco CD34 + autólogas transduzidas ex vivo com um vetor de globina Lentiviral Beta-A-T87Q	T87Q (antissickling β-globina)	5-35 / Fase I / II	Ativo, não recrutando	Bluebird Bio

	(Medicamento LentiGlobin BB305)				
--	------------------------------------	--	--	--	--

Fonte: ClinicalTrials.gov, 2018.

3.6.7 Pontos positivos e perspectivas futuras da terapia gênica

Abordagens que empregam com sucesso a adição ou correção do gene da globina, ou indução de HbF, asseguram a produção de eritrócitos com meia-vida mais longa do que os eritrócitos SCD. Portanto, correção de apenas um subconjunto de HSCs provavelmente teria um grande benefício terapêutico, dado a vantagem de eritrócito seletivo. De fato, a experiência clínica em receptores de transplante alogênico com quimerismo misto sugere que sequelas de SCD não são observadas acima de um limite de 20% de HSCs normais, uma observação consistente com modelagem matemática. Embora os sujeitos do ensaio clínico inicial sejam adultos e adolescentes, espera-se que os mais jovens. Os pacientes com SCD podem se beneficiar mais, pois têm menos danos irreversíveis e acumulados em órgãos. No entanto, os riscos dos efeitos tardios do condicionamento para transplante, além de qualquer intrínsecos riscos de modificação genética também podem ser maiores em tais pacientes. Avanços futuros em terapia autóloga poderiam minimizar a toxicidade do pré-condicionamento mieloablativo, ou talvez até mesmo permitir modificação genética *in vivo*. À medida que as terapias genéticas demonstram eficácia clínica e avançam em direção à aprovação do FDA, os desafios do reembolso por esses procedimentos que consomem muitos recursos devem ser abordados. Embora o econômico os benefícios de curar uma doença grave ao longo da vida não podem ser subestimados, o custo de uma doença cara a terapia do tempo representa um desafio para os pagadores. Para demonstrar uma proposta de valor, a terapia deve ser curativo, consistente e durável. Se assim for, novas estruturas de pagamento serão desenvolvidas, incluindo pagamentos amortizados ou subsidiados ou mecanismos de pagamento por desempenho incentivados. O maior desafio pela frente é o problema de escala de tornar as terapias genéticas disponíveis em áreas geográficas onde a carga global de doenças é maior, mas os recursos são mais escassos (HOBAN et al, 2016).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto, fica evidenciado que o tema abordado, consiste na investigação de opções para a sobrevivências e proporção de conforto biológico dos anêmicos, que em sua grande maioria fazem parte da população que não é favorecida economicamente perante as questões sociológicas em que se vive e que consequentemente dependem de serviços de saúde pública para garantir um tratamento adequado. Portanto conclui-se que, apesar da AF ser uma doença que gera impactos e sintomas consideráveis nos pacientes que a detém, pela situação atual dos avanços científicos e do Estado, percebe-se que essa doença não impulsionou o suficiente as organizações médicas governamentais para que contribuam e tomem medidas administrativas a fim de incentivar pesquisadores e estudiosos sobre a anemia falciforme. Que em seus desdobramentos percorrem linhas científicas e comprobatórias referente a uma cura ou tratamento que concederá aos pacientes uma qualidade de vida maior e melhor, não recebem o mesmo apoio e investimento necessário se atentarem a causa e efeito da patologia em si, garantindo o avanço tecnológico na saúde tornando mais acessível as tentativas e provas técnicas e científicas, pois não representa consideravelmente a parcela de importância dentro das prioridades das indústrias. Somente em 2010 a OMS publicou metas e objetivos específicos de modo a realizar planejamentos estratégicos, erradicando este índice, seguindo a proposta na profilaxia com penicilinas, imunizações pneumocócicas, e educação que podem salvar vidas e aumentar a sobrevida dos acometidos da doença.

REFERÊNCIAS

- ANTUNES, S. R; AYRES, L. S; SILVA, S.S.D; ZANELATTO, C; RAHMEIER, Francine. L. *Hematologia clínica*, 2020.
- BAUER, D. E; BRENDEL, C; FITZHUGH, C. D; *Curative approaches for sickle cell disease: A review of allogeneic and autologous strategies*. Blood Cells Mol Dis. 2017;67:155-168.
- CARDOSO, A.I; FERREIRA, M.A; *Estudos econômicos completos sobre tratamentos da anemia falciforme*. 2021, v. 34
- CIEDVARD SMITH - *Terapia genética - da ideia à realidade*, Läkartidningen Volym 114, 2017.
- COLLINS, M; THRASHER, A - *Terapia genética: progresso e previsões*, Proc. R. Soc. B 282: 20143003, 2015
- FERREIRA, F; GOUVÊA, C. M. C. P; *Recentes avanços no tratamento da anemia falciforme*. Revista Médica de Minas Gerais, 2018;28-1984.
- HOBAN, M. D; ORKIN, S. H; BAUER, D. E; *Genetic treatment of a molecular disorder: gene therapy approaches to sickle cell disease*. Blood. 2016;127(7):839-848.
- HOTEZ P. J; HERRICKS, J. R; *Impact of the Neglected Tropical Diseases on Human Development in the Organisation of Islamic*, 2015; 9(11):e0003782.
- LÄKARTIDNINGEN E. S; *Tratamentos atuais e emergentes para doença falciforme*, 2017
- MONUS T, HOWELL CM. *Tratamentos atuais e emergentes para doença falciforme*, 2019
- NAOUM, C. P. *Eletroforeses - Hemoglobinopatias, Proteínas Séricas, Lipoproteínas, Dna*. 2011.
- SILVA, P. H. D; ALVES, H.B; COMAR, S.R; AL., Et. *Hematologia Laboratorial*, 2015. 9788582712603.
- NOGUEIRA, K. D. A; SILVA W. D. L; PAIVA, S. G; *Diagnóstico laboratorial da anemia falciforme*, 2013

SOARES, L. F; et al. *Prevalência de hemoglobinas variantes em comunidades quilombolas no estado do Piauí, Brasil, 2017*, v. 22, n. 11

STUART H. ORKIN; DANIELE E. BAUER - *Terapia genética emergente para doença falciforme*, Rev. Med. 2019. 70:23.1–23.15

VIEDMA, I; *Present and future of CRISPR/Cas systems in Biotechnology*. Biotecnol Apl, La Habana, 2018 v. 35, n. 2, p. 2101-2107.

WARE, R. E; *A anemia falciforme é uma doença tropical negligenciada?* 2013, 7(5), e2120.