

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ  
ESCOLA DE CIÊNCIAS DA VIDA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOÉTICA**

**NORTON NOHAMA**

**CRISPR E A EDIÇÃO GENÔMICA: OPORTUNIDADE OU AMEAÇA?**

**CURITIBA**

**2018**

**NORTON NOHAMA**

**CRISPR E A EDIÇÃO GENÔMICA: OPORTUNIDADE OU AMEAÇA?**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Bioética, área de concentração: Bioética, da Pontifícia Universidade Católica do Paraná como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Bioética.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Daiane Priscila Simão-Silva

Coorientador: Prof. Dr. Anor Sganzerla

**CURITIBA**

**2018**

Dados da Catalogação na Publicação  
Pontifícia Universidade Católica do Paraná  
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR  
Biblioteca Central  
Luci Eduarda Wielganczuk – CRB – 9/1118

N779c  
2018 Nohama, Norton  
CRISPR e a edição genômica : oportunidade ou ameaça? / Norton  
Nohama ; orientadora: Daiane Priscilla Simão-Silva ; coorientador: Anor  
Sganzerla. – 2018.  
303 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná,  
Curitiba, 2018  
Bibliografia: f. 229-251

1. Bioética. 2. Repetições palindrômicas curtas agrupadas e regularmente  
espaçadas. 3. Biossegurança. 4. Edição de genes. I. Silva, Daiane Priscilla  
Simão. II. Sganzerla, Anor. III. Pontifícia Universidade Católica do Paraná.  
Programa de Pós-Graduação em Bioética. IV. Título.

CDD 20. ed. – 174.9574



PUCPR

GRUPO MARISTA

Pontifícia Universidade Católica do Paraná  
Escola de Ciências da Vida  
Programa de Pós-Graduação em Bioética - Stricto Sensu

**ATA DE SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOÉTICA**

**DEFESA DE DISSERTAÇÃO Nº 29/2018  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Bioética**

Em sessão pública às catorze horas do dia onze de dezembro do ano de dois mil e dezoito, na sala 2 do Mestrado, 2º andar da Escola Ciências da Vida, realizou-se a sessão pública de Defesa da Dissertação "CRISPR E A EDIÇÃO GENÔMICA: OPORTUNIDADE OU AMEAÇA"? Apresentada pelo aluno **Norton Nohama** sob orientação da **Professora Doutora Daiane Priscila Simão-Silva** como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Bioética**, perante uma Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:

**Professora Doutora Daiane Priscila Simão-Silva**  
Presidente

**Professor Doutor Thiago Rocha da Cunha**  
Membro interno (PUCPR)

**Professor Doutor Rogério Saad Vaz**  
Membro externo (FPP)

**Professora Doutora Marta Luciane Fischer**  
Suplente

Início: 14:00 Término 13:30.

Conforme as normas regimentais do Programa de Pós-Graduação em Bioética da Pontifícia Universidade Católica do Paraná o trabalho apresentado foi considerado APROVADO (aprovado/reprovado).

O(a) aluno(a) está ciente que a homologação deste resultado está condicionado (a): (I) ao cumprimento integral das solicitações da Banca Examinadora, que determina um prazo de \_\_\_\_\_ dias para ao cumprimento dos requisitos; (II) entrega da dissertação em conformidade com as normas especificadas no Regulamento do PPGB/PUCPR; (III) entrega de documentação necessária para elaboração do Diploma.

Aluno: **Norton Nohama**

**Professor Doutor Thiago Rocha da Cunha**  
**Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Bioética**



Dedico este trabalho ao meu querido  
irmão Percy Nohama, grande incentivador  
desta empreitada e que me encorajou por  
inúmeras vezes para enfrentar este  
desafio.

## **AGRADECIMENTOS**

Concluída esta jornada de buscas pelo conhecimento, é justo e necessário reconhecer que o caminho até aqui percorrido somente foi possível graças à paciente dedicação incondicional, visão humanística de mundo, sensibilidade ímpar e generosidade da digníssima Profa. Dra. Daiane Priscila Simão-Silva, que aceitou o árduo desafio de orientar um egresso da faculdade de filosofia nessa aventura acadêmica pelo maravilhoso mundo da genética. Creio que foi enriquecedora essa travessia que juntos fizemos pela ponte de que fala Potter entre as ciências e as humanidades.

Justo e necessário também reconhecer o quão importante foram os ensinamentos do conjunto dos professores do Programa de Pós-graduação em Bioética, em especial o apoio, incentivo e orientação dos seus Coordenadores, Prof. Dr. Mário Antonio Sanches e Thiago Rocha da Cunha, bem como da digníssima Secretária Sandra Maria Lopes.

Agradeço também, de maneira especial o generoso apoio do prof. Dr. Paulo Sérgio Macuchem Nogas, da Diretoria de Administração da Graduação desta universidade e do biólogo molecular e doutorando Otávio Rodrigues, a quem pude me socorrer para superar alguns momentos de singular necessidade que enfrentamos nesta jornada.

A todas essas pessoas, dedico a minha mais profunda e sincera gratidão e desejo de que esta dissertação dignifique e esteja à altura de meus mestres.

O Prometeu definitivamente desacorrentado, ao qual a ciência confere forças antes inimagináveis e a economia o impulso infatigável, clama por uma ética que, por meio de seus freios voluntários, impeça o poder dos homens de se transformar em uma desgraça para eles mesmos.

(Jonas, 2006, p. 21)

## RESUMO

Capaz de editar virtualmente qualquer genoma e considerada por especialistas de rápida e fácil aplicação a baixos custos, a ferramenta molecular CRISPR-Cas9 vem sendo amplamente utilizada, a ponto de ser apontada inclusive como uma importante inovação em termos de democratização da área. No entanto, os problemas intrínsecos à técnica, tais como erros de edição, cortes fora do alvo e mosaicismos, bem como experimentos com impulso genético e em linhagem germinativa humana, despertaram diversas preocupações na comunidade científica para a necessidade de um amplo debate acerca das implicações éticas envolvidas e para se estabelecer regulamentação internacional específica para as pesquisas. Neste trabalho, nos propusemos a analisar as ameaças e oportunidades que decorrem da técnica, bem como as implicações éticas envolvidas sob três abordagens distintas, mas interligadas: descritiva, prescritiva e analítica. Para tanto realizamos pesquisa bibliográfica exploratória narrativa interdisciplinar e transversal, estruturada em cinco grupos temáticos os quais embasaram a identificação dos riscos e benefícios mapeados em três blocos: a) aqueles explicitados pelo conhecimento atual mais amplo; b) os que decorrem do processo de Pesquisa & Desenvolvimento e c) os que emergem dos produtos advindos da técnica. Dentre as várias considerações explanadas, destacamos que de fato CRISPR é uma nova revolução no campo da genética, com grande potencial imediato para produzir produtos e benefícios altamente relevantes para a sociedade humana. No entanto, vislumbramos que os riscos intrínsecos e subjacentes à técnica são muito maiores do que previstos inicialmente e se ampliam exponencialmente à medida em que são considerados no contexto mais amplo do conhecimento das outras áreas. Há grandes desafios regulatórios a serem enfrentados, mormente nos campos da pesquisa e dos produtos dela resultantes e somente uma abordagem interdisciplinar e transversal, baseada em uma ética global, comprometida com o futuro da biosfera, incluindo-se nela o ser humano, subordinada irremediavelmente à responsabilidade como princípio será capaz de discernir com sabedoria entre riscos e benefícios e quais deles tem implicações éticas, sociais, políticas e econômicas a serem consideradas para orientar escolhas e caminhos eticamente aceitáveis.

**Palavras-chave:** Bioética; CRISPR; ameaça e oportunidade; edição genética, biossegurança, bioproteção.



## ABSTRACT

Capable of editing virtually any genome and regarded by specialists as quick, easy and low-cost, the molecular tool CRISPR-Cas9 has been widely utilized of late, to the extent of being pointed out as an important innovation moreover the democratization of the area. However, the problems intrinsic to the technique such as editing errors, cuts off-target and mosaicism, as well as experiments in the human germline and with genetic impulse, have raised several concerns in the scientific community regarding the necessity to hold a broad debate about the involved ethical implications and to establish international regulations specific to research. In this work we have proposed to analyze the threats and opportunities that arise from the technique and to analyze the involved ethical implications under three different but connected approaches: descriptive, prescriptive and analytical. To do so, we have carried out a transversal interdisciplinary narrative exploratory bibliographic research, structured in five thematic groups which underlie the identification of the risks and benefits mapped into three blocks: a) those made explicit by the broader current knowledge; b) those that are the result of the R&D process, and c) those which emerge from the products of the technique. Among the many explained considerations, we underline that CRISPR is in fact a new revolution in the field of genetics with a great immediate potential to create relevant products and benefits for human society. However, we glimpse that the underlying and inherent risks are much bigger than initially foreseen and are exponentially expanded as they are considered in the broader context of knowledge from other areas. There are great regulatory challenges to be faced, particularly in the fields of research and its products. Therefore, only an interdisciplinary and transversal approach, based on global ethics, compromised with the future of the biosphere, including the human being, unconditionally dependent to responsibility as a principle will be able to discern with wisdom between the risks and benefits and which of them have ethical, social, political and economic implications to be considered in order to orient choices and ethically acceptable paths.

**Key-words:** Bioethics; CRISPR; threat and opportunity; genome editing; biosafety; bioprotection.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Palíndromo em estrutura de DNA .....	77
Figura 2 - Esquema dos mecanismos de ação de CRISPR-Cas9 .....	80
Figura 3 – Resumo esquemático: herança padrão (Mendeliana) e herança por gene drives.....	84
Figura 4 - Linha do tempo: eventos históricos envolvendo uso de agentes biológicos como arma .....	102
Figura 5 - A história de vinte anos de CRISPR desdobrada em doze cidades e em nove países*.....	144
Figura 6 - Dimensões para análise bioética dos riscos e benefícios de CRISPR....	157
Figura 7 - Mapa conceitual ameaças e oportunidades de CRISPR - síntese.....	183
Figura 8 - Mapa conceitual ameaças e oportunidades de CRISPR - detalhe oportunidades.....	184
Figura 9 - Mapa conceitual ameaças e oportunidades de CRISPR - detalhe 1 - ameaças.....	185
Figura 10 - Mapa conceitual ameaças e oportunidades de CRISPR - detalhe 2 - ameaças.....	186
Figura 11 - Mapa conceitual ameaças e oportunidades de CRISPR - detalhe 3 - ameaças.....	187
Figura 12 - Mapa conceitual ameaças e oportunidades de CRISPR – quadro geral .....	188
Figura 13 - Estrutura típica de uma célula procarionte, representada por uma bactéria. ....	263
Figura 14 - Estrutura de uma célula eucarionte animal .....	264
Figura 15 - Estrutura de uma célula eucarionte vegetal .....	264
Figura 16 - Desenho esquemático de um plasmídeo com resistências a antibióticos (1" e 2" e um ori 3"). .....	267
Figura 17 - Desenho esquemático da conjugação bacteriana .....	268
Figura 18 - Diagrama de mitocôndria humana .....	270
Figura 19 - Regiões alélicas do mtDNA relacionadas a síndromes e atividades dos Complexos I, II, III e IV. ....	273
Figura 20 - Doenças e síndromes mitocondriais segundo a origem x relação genômica.....	274

Figura 21 - Pontes de hidrogênio e ligações fosfodiester.....	278
Figura 22 – Forma compacta da molécula de DNA com os sulcos onde ocorrem as interações com proteínas .....	279
Figura 23 – DNA, replicação semiconservativa.....	279
Figura 24 – Replicação do DNA.....	281
Figura 25 - Comparação entre diferentes formas da cromatina .....	290

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparativo das técnicas de edição gênica. ....	74
Tabela 2 - Organismos que foram modificados usando o sistema CRISPR-Cas9 até 2014. ....	86
Tabela 3 - Eventos históricos envolvendo uso de agentes biológicos como arma. .	100
Tabela 4 - Áreas e produtos de interesses da indústria de biotecnologia baseadas em Cas9.....	127
Tabela 5 - Exemplos de fenótipos conferidos por plasmídeos em procariotos .....	267
Tabela 6 - Particularidades do mtDNA .....	271
Tabela 7 - Principais manifestações clínicas das doenças mitocondriais .....	275
Tabela 8 - Exemplos de MicroRNAs associados à biologia endócrina e câncer. ....	283
Tabela 9 - Atividades biológicas relacionadas a forma conformacional Z-DNA. ....	291
Tabela 10 - Tipos de mutações gênicas.....	293
Tabela 11 - Tipos de mutações numéricas ou estruturais.....	294
Tabela 12 - Parâmetros norteadores dos critérios de classificação de risco para OGMs.....	298
Tabela 13 - Principais critérios para avaliação de risco .....	299
Tabela 14 - Classes de Riscos dos agentes biológicos .....	300
Tabela 15 - Nivel de Biossegurança 1 para OGMs, Classe de Risco 1 e especificidades.....	301
Tabela 16 - Nivel de Biossegurança 2 para OGMs, Classe de Risco 2 e especificidades.....	301
Tabela 17 - Nivel de Biossegurança 3 para OGMs, Classe de Risco 3 e especificidades.....	301
Tabela 18 - Nivel de Biossegurança 4 para OGMs, Classe de Risco 4 e especificidades.....	302



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAV	Vetores adenoassociados
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ACNUR	Alto Comissariado das Nações Unidas para os Refugiados (ONU)
ADPF	Arguição de Descumprimento de Preceito Fundamental
AIDS	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i> (em português Síndrome da imunodeficiência adquirida - SIDA)
AMED	<i>Agency for Medical Research and Development</i> – Japan
ASGCT	<i>American Society for Gene and Cell Therapy</i>
ATCO	<i>Air Traffic Controller</i>
ATP	Adenosina trifosfato
AVC	Acidente vascular cerebral
BE	Editor de Bases (de nucleotídeos)
BMBF	<i>Federal Ministry of Education and Research</i> – Alemanha
BWC	<i>Biological Weapons Convention</i>
Cas9	<i>CRISPR associated protein 9</i> (em português: Proteína Associada a CRISPR)
CBS	Comissão de Biossegurança em Saúde
CD4	<i>Cluster of differentiation 4</i> (em português Grupamento de diferenciação 4)
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças (Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos da América)
CIDH	Comissão Interamericana de Direitos Humanos
CIHR	<i>Canadian Institutes of Health Research</i>
COMEST	Comissão Mundial sobre Ética do Conhecimento Científico e Tecnologia (UNESCO)
COX	Citocromo-oxidase
CR-1	Classe de Risco 1
CR-2	Classe de Risco 2
CR-3	Classe de Risco 3
CR-4	Classe de Risco 4

CRISPR	<i>Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats</i> (em português Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas)
crRNA	CRISPR RNA
CTNBio	Comissão Técnica Nacional de Biossegurança
DBD	Domínio de ligação no DNA
DM	<i>Diabetes melitus</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i> (em português Ácido Desoxirribonucleico - ADN)
DOE	Departamento de Energia (Estados Unidos da América)
DSB	<i>Double strand break</i> (em português Quebra de Dupla Fita)
EBV	<i>Vírus Epstein-Barr</i> (herpesvírus humano)
ELA	Esclerose Lateral Amiotrófica
EPI	Equipamento de Proteção Individual
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i> (ONU)
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
GH	<i>Growth hormone</i> (em português hormônio de crescimento)
GIS	<i>The Genome Institute of Singapore</i>
HDR	<i>Homology-directed repair</i> (em português Reparo Dirigido por Homologia)
HEP	<i>Human Epigenome Project</i>
HEPA	<i>High Efficiency Particulate Arrestance</i>
hiPSC	Célula estaminal pluripotente humana induzida
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i> (em português Vírus da Imunodeficiência Humana)
HKUST	<i>Hong Kong University of Science and Technology</i>
HPV	Papilomavírus humano
IBC	Comitê Internacional de Bioética (UNESCO)
ICRP	<i>International Commission on Radiation Protection</i>
IDLV	Vetor lentiviral de integração deficiente
iGEM	<i>International Genetically Engineered Machine</i>
IHEC	<i>Internacional Human Epigenome Consortium</i>
IPO	Oferta Pública Inicial

iPSC	Célula estaminal pluripotente induzida
JSGT	<i>Joint Position Statement on Human Genomic Editing</i>
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
LHON	<i>Leber's hereditary optic neuropathy</i>
MCR	Reação Mutagênica em Cadeia
MELAS	<i>Mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes</i>
MERRF	<i>Myoclocic epilepsy and ragged-red fiber</i>
miRNA	Micro-RNA
MIT	<i>Massachusetts Institute of Technology</i>
MLST	<i>Multilocus Sequence Typing</i>
mRNA	RNA mensageiro
MRSA	<i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> (em português <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à metilina)
mtDNA	DNA mitocondrial
NARP	Neuropatia, ataxia, retinite pigmentosa
NASEM	<i>National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine</i>
NB-1	Nível de Biossegurança 1
NB-2	Nível de Biossegurança 2
NB-3	Nível de Biossegurança 3
NB-4	Nível de Biossegurança 4
nDNA	DNA nuclear
NHEJ	<i>Non - homologous end - joining</i> (em português União de Extremidade não-Homóloga)
NHGRI	<i>National Human Genome Research Institute</i> (em português Instituto Nacional de Pesquisa do Genoma Humano)
NIH	<i>National Institutes of Health</i> – USA
NM	Nanomaterial
OAB	Ordem dos Advogados do Brasil
OEA	Organização dos Estados Americanos
OECP	Oftalmoplegia externa crônica progressiva
OGM	Organismo geneticamente modificado
OMS	Organização Mundial de Saúde (ONU)

ONU	Organização das Nações Unidas
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde (OMS)
ORI	Origem de replicação
OTAN	Organização do Tratado do Atlântico Norte
p.	Página
PCdoB	Partido Comunista do Brasil
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (em português Reação em Cadeia da Polimerase – RCP)
PGC	<i>Cellule germinali primordiali</i> (em português Célula Germinativa Primordial)
PGH	Projeto Genoma Humano
PI	Propriedade Intelectual/Industrial
PILI	Proteínas de pilina
PMA	Programa Mundial de Alimentos (ONU)
PPLO	<i>Pleuro-pneumonia like organisms</i> (em português organismos semelhantes aos da pleuropneumonia)
PUCPR	Pontifícia Universidade Católica do Paraná
rAAV	Vetor recombinante adenoassociado
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i> (em português Ácido Ribonucleico -ARN)
RNA <sub>m</sub>	RNA mensageiro
RNA <sub>r</sub>	RNA ribossômico
RNA <sub>t</sub>	RNA transportador
RNM	Ressonância nuclear magnética
siRNA	<i>Small interfering RNA</i>
SKS	<i>Kearns-Sayre</i>
STF	Supremo Tribunal Federal (Brasil)
TALE	<i>Transcription Activator-like Effector</i>
TALENs	<i>Transcription Activator-like Effector Nucleases</i>
TC	Tomografia de crânio
tracrRNA	<i>Trans-activating CRISPR RNA</i>
trad.	Tradutor
UNDAC	<i>United Nations Disaster Assessment and Coordination</i> (ONU)



UNESCO	<i>United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization</i> (ONU)
UNICEF	<i>United Nations Children's Fund</i> (ONU)
UNMEER	<i>UN Mission for Ebola Emergency Response</i> (ONU)
UNODA	<i>United Nations Office for Disarmament Affairs</i> (ONU)
URSS	União das Repúblicas Socialistas Soviéticas
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
ZFNs	<i>Zinc Finger Nuclease</i> (em português nucleases de dedos de zinco)
ZFP	<i>Zinc finger protein</i>

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>20</b>
1.1	PROBLEMATIZAÇÃO .....	25
1.2	OBJETIVOS .....	27
<b>1.2.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	<b>27</b>
<b>1.2.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>27</b>
1.3	PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS .....	28
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>30</b>
2.1	A VIDA E O CONHECIMENTO CIENTÍFICO QUE SE TEM SOBRE ELA (EVOLUÇÃO, GENÉTICA, EDIÇÃO GÊNICA E CRISPR).....	33
<b>2.1.1</b>	<b>Evolução: o caminho da vida</b> .....	<b>34</b>
<b>2.1.2</b>	<b>Biologia da vida e a genética</b> .....	<b>40</b>
2.1.2.1	Genética .....	41
2.1.2.2	Casos emblemáticos e atuais de evolução.....	44
2.1.2.3	Diversidade, variabilidade, imprevisibilidade e determinismo genético .....	55
<b>2.1.3</b>	<b>Ferramentas moleculares para edição de genes</b> .....	<b>69</b>
2.1.3.1	CRISPR .....	77
2.1.3.1.1	CRISPR – alguns antecedentes históricos .....	77
2.1.3.1.2	CRISPR - atualidades.....	82
2.1.3.2	Editores de base - BE.....	90
2.1.3.3	Avanços e perspectivas da pesquisa com CRISPR .....	91
2.2	BIOSSEGURANÇA, BIOPROTEÇÃO E A EDIÇÃO DE GENES .....	97
<b>2.2.1</b>	<b>Classificação de riscos dos agentes biológicos e níveis de segurança em laboratórios de Pesquisa &amp; Desenvolvimento</b> .....	<b>108</b>
<b>2.2.2</b>	<b>Ciência e sociedade: em busca de um caminho seguro</b> .....	<b>114</b>
<b>2.2.3</b>	<b>A bancada do laboratório</b> .....	<b>119</b>
2.3	BREVE REFLEXÃO SOBRE A REALIDADE DO MUNDO ATUAL, NA QUAL CRISPR SE INSERE.....	125
<b>2.3.1</b>	<b>As determinantes sociais, geopolíticas e econômicas de um mundo globalizado, desigual, excludente e em conflito</b> .....	<b>126</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Regulação internacional e acompanhamento das pesquisas de edição genética</b> .....	<b>137</b>
2.4	FUNDAMENTOS DE UMA ÉTICA PARA A EDIÇÃO DE GENES .....	153

2.4.1	Em busca de uma ética .....	154
2.4.2	O progresso e a edição de genes: do conhecimento perigoso ao temor.. .....	159
2.4.3	Da técnica à sabedoria e à responsabilidade: um dever para com o futuro .....	171
3	<b>ANÁLISE DOS RESULTADOS.....</b>	<b>177</b>
3.1.1	Edição em linhagem somática x linhagem germinativa.....	203
3.1.2	Cura x melhoramento: recolocando o debate.....	206
3.1.3	Biossegurança e bioproteção e a regulação internacional .....	212
4	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS OU CONCLUSÃO .....</b>	<b>216</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>229</b>
	<b>APÊNDICE A – A VIDA E O CONHECIMENTO CIENTÍFICO QUE SE TEM SOBRE ELA .....</b>	<b>252</b>
5	<b>TEORIAS DA EVOLUÇÃO .....</b>	<b>252</b>
6	<b>O PROJETO GENOMA HUMANO (PGH) .....</b>	<b>259</b>
	<b>APÊNDICE B – OS NUCLEOTÍDEOS E AS INTERFACES DA VIDA.....</b>	<b>262</b>
7	<b>DNA, RNA E OUTROS ELEMENTOS MÓVEIS .....</b>	<b>262</b>
7.1	PROCARIONTE .....	262
7.2	EUCARIONTE .....	263
7.3	PLASMÍDEOS .....	265
7.4	MITOCÔNDRIAS.....	268
7.5	DNA NUCLEAR, RNA E MICRO-RNA .....	276
7.6	EPINEGÉTICA.....	284
7.7	MUTAÇÕES .....	293
	<b>APÊNDICE C – OUTRAS TÉCNICAS DE MANUPILAÇÃO DE NUCLEOTÍDEOS.....</b> .....	<b>296</b>
8	<b>OUTRAS TÉCNICAS DE EDIÇÃO .....</b>	<b>296</b>
8.1	ZINC-FINGER NUCLEASES .....	296
8.2	TALENS.....	296
8.3	MEGANUCLEASE.....	297
	<b>APÊNDICE D – PRINCIPAIS PARAMETROS NORTEADORES, CRITÉRIOS E ESPECIFICIDADES PARA AVALIAÇÃO DE RISCOS POR CLASSES DE RISCO ...</b> .....	<b>298</b>

<b>APÊNDICE E – REQUISITOS E ESPECIFICIDADES POR NÍVEL DE BIOSSEGURANÇA .....</b>	<b>301</b>
---	------------

## 1 INTRODUÇÃO

Uma das grandes novidades da biotecnologia, que tem tomado a grande imprensa e os periódicos especializados com intensidade e despertado o interesse tanto do grande público como de especialistas, diz respeito à descoberta de uma nova tecnologia de edição de genes denominada CRISPR-Cas9 - *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* (Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas). (Cong *et al.*, 2013; Jinek *et al.*, 2012).

Motivos não faltam, em razão do seu enorme potencial para curar doenças graves e desenvolver soluções importantes para setores ligados à agricultura, pecuária e meio ambiente. Afinal, estima-se que existam 7 mil tipos de doenças raras, que atingem entre 6% e 8% da população mundial, algo entre 420 a 560 milhões de pessoas. (BBC Brasil, 2013). Anualmente 700 mil pessoas morrem de infecções incontroláveis (ONU Meio Ambiente, 2017; UN Environment, 2017a) e 8,8 milhões de câncer (OPAS/OMS, 2017a), isso sem falar da AIDS, da malária, do ebola, e tantas outras doenças letais para as quais a boa nova representa uma esperança real em um espaço de tempo muito curto. Além disso, há a perspectiva de que com a técnica, seja possível selecionar características que tornarão as pessoas melhor adaptadas ao seu meio, de modo a que cada um possa ser melhor favorecido. Estes talvez sejam, de modo geral, os sonhos da comunidade científica, de pacientes, profissionais de saúde e, poderíamos dizer, de grande parte da humanidade: seres humanos mais saudáveis e mais felizes, através de uma medicina barata, profilática, eficiente e de fácil acesso, da célula germinativa à mais avançada idade e disponível para todos os seres humanos. (Barrangou *et al.*, 2007).

Com efeito, um olhar mais atento sobre o enorme e fantástico potencial da edição genética alcançado nas últimas décadas, com ferramentas como meganucleases, ZFNs (“*zinc-finger nucleases*”), TALENs (“*transcription activator-like effector nucleases*”), e agora fortemente revitalizado pelo desenvolvimento do sistema CRISPR-Cas9, põe em evidencia a sutileza ética dos resultados possíveis e expõe a linha tênue e cediça que divide o que se poderia considerar um bom de um mau resultado, ou como preferem alguns, um resultado eticamente aceitável de outro inaceitável para a sociedade, para as pessoas e para o meio ambiente. De fato, CRISPR é uma inovação das mais relevantes para o nosso tempo, não apenas pelo que ela é capaz de fazer como ferramenta molecular para estudo e edição de genes,

mas também porque ela traz para o tempo presente a urgência dessa discussão que até agora, não raras vezes, vinha sendo tratada como um tema de fronteira da ciência, quase uma ficção. Neste sentido, o futuro chegou e ao que parece, está com pressa! Apenas para se ter uma ideia, até final de 2014 ou meados de 2015, já haviam sido registradas mais de uma dúzia de novas patentes e outros 100 novos pedidos que incluíam reivindicação de autoria ou descreviam aplicações para o sistema CRISPR-Cas9. (Sherkow, 2015). Enquanto investimento, calcula-se que o frenesi do setor econômico ligado a CRISPR-Cas9, em pouco mais de um ano, entre 2013 e 2015, agremiou US\$ 600 milhões em capital de risco, com participações de empresas tradicionais, startups e gigantes de setores farmacêutico, agrícola, biomédico e fornecedores de insumos para pesquisa, no que tem sido denominado como “a mina de ouro da biotecnologia”. (Erp, van *et al.*, 2015).

Considerada simples, barata e rápida (em comparação às demais técnicas de edição de genes), CRISPR-Cas9 está acessível a uma infinidade de laboratórios e cientistas mundo afora. (The Hinxton Group, 2015). Se por um lado isto parece indicar um caminho promissor para a democratização deste ramo da ciência e para o desenvolvimento de soluções para os mais diversos problemas de saúde, dentro de um período de tempo muito menor do que se esperava, por outro amplia substancialmente o já difícil acompanhamento de todos os projetos de pesquisa em execução no mundo, sobretudo no que se refere a se observam parâmetros éticos aceitáveis, se respeitam metodologias e procedimentos de biossegurança preconizados pela comunidade científica, se estão sendo introduzidas modificações na linhagem germinativa das espécies pesquisadas e que impactos as mesmas trarão para os respectivos ecossistemas onde as mesmas serão introduzidas ao longo do tempo. (Lacadena, 2017).

Derivada de um sistema imunológico inato de bactérias e archaea<sup>1</sup>, CRISPR-Cas9, em apenas 6 anos (a sua descoberta foi anunciada em 2012), migrou rapidamente da pesquisa básica para a pesquisa aplicada e diversos ensaios clínicos vem sendo desenvolvidos desde 2015, demonstrando um potencial de resultados que

---

<sup>1</sup> O domínio archaea começou a ser considerado como um terceiro grupo distinto de eucariotos e procariotos a partir dos trabalhos de Carl R. Woese com *Methanobacterium thermoautotrophicum*, no qual se observou que os padrões de nucleotídeos nas linhagens deste grupo eram distintas e que pareciam refletir fenótipos primitivos, que possivelmente teriam surgido há cerca de três ou quatro bilhões de anos. (Oliveira, 2009).

em geral supera com vantagens as demais técnicas de edição gênica em uso. Ao mesmo tempo, alguns graves problemas que ainda não foram controlados, como cortes fora do alvo (*off-target*) e mosaicismos, somado a alguns experimentos com embriões humanos (Liang *et al.*, 2015a) e impulso genético (*gene drive*), (Gantz e Bier, 2015), associados a um crescimento exponencial da quantidade de pesquisas em todo o mundo, no vácuo de uma regulamentação internacional, a uma velocidade não vista até então, tem mobilizado a comunidade científica, incluindo bioeticistas e gestores a uma reflexão interessante sobre os limites éticos para o uso da técnica, em especial em linhagem germinativa humana. Propostas de moratória e de debates a exemplo de Asilomar<sup>2</sup>, tem surgido como alternativas para enfrentar os desafios trazidos por CRISPR-Cas9. (Lanphier *et al.*, 2015; Regalado, 2015).

Apesar da agitação no meio científico, ainda são poucas as publicações especializadas que debatem as implicações éticas de CRISPR-Cas9, e em geral elas tem se concentrado nos problemas mais diretamente relacionados à técnica, como os que mencionamos acima, a saber: as edições *off-target*, o mosaicismos e as implicações da pesquisa com edição de embriões humanos, acrescido de uma discussão acerca da necessidade de regulamentação internacional para a pesquisa. (Bosley *et al.*, 2015). Outras apenas mencionam questões ou aspectos éticos sem entrar maior aprofundamento. (Savi C e Schwank Zurich, 2016; Liang *et al.*, 2015<sup>a</sup>; Lander, Chiurillo e Docampo, 2016; Zeng *et al.*, 2018; Gantz *et al.*, 2015; Ma *et al.*, 2017; Doudna, 2015a;). Poucas são as publicações, mesmo as que discutem CRISPR-Cas9 a partir da bioética, que abordam outros aspectos talvez tão importantes quanto estes citados, e menos ainda as que a relacionam a outras áreas do conhecimento. (Heitman, Sawyer e Collins, 2016; Charo *et al.*, 2017). Denota-se também uma aparente tendência de considerar os riscos da técnica prevalentemente para a espécie humana, em detrimento das demais, num viés antropocentrismo que parece ignorar que possíveis afetações ao meio ambiente podem trazer consequências importantes para o ser humano, num silenciamento incomodo acerca do valor ético intrínseco dos demais seres não humanos.

---

<sup>2</sup> Asilomar foi uma conferência realizada em 1975, na península de Monterey na Califórnia, por pesquisador de diversas áreas, incluindo geneticistas, médicos e filósofos, para discutir os riscos e benefícios da tecnologia do DNA Recombinante e propor diretrizes para condução das pesquisas, de adoção voluntária. (“Asilomar conference on DNA recombinant molecules”, 1975; “Summary statement of the asilomar conference on recombinant DNA molecules”, 1975).

Outro aspecto que chama a atenção nas publicações que mencionamos é que em geral as questões éticas tem sido debatidas prevalentemente sob a perspectiva dos produtos que possam ser desenvolvidos para uso humano a partir de CRISPR-Cas9, que de fato ainda não estão disponíveis, permanecendo um vácuo no debate sobre um conjunto de questões bastante específicas que antecedem e perpassam todo o processo de pesquisa e desenvolvimento, e que com efeito representam riscos que convém sejam considerados, mesmo porque ajudam a ter uma visão mais abrangente da magnitude dos mesmos e dos benefícios envolvidos, que vão além dos produtos para uso humano, veterinário ou agrícola. É também sobre estas questões que iremos tratar ao longo deste trabalho e esperamos, possa representar uma contribuição a mais ao debate.

Dito isto, nos próximos capítulos faremos seis movimentos prospectivos: 1º vamos buscar reunir o conhecimento mais amplo sobre o qual CRISPR-Cas9 se assenta para entender quais são as bases que fundamentam a técnica e vislumbrar as fragilidades que a antecedem e a perpassam; 2º vamos buscar condensar o conhecimento específico sobre edição de genes, em especial sobre a técnica CRISPR-Cas9 para compreender as vantagens, os riscos e benefícios envolvidos na pesquisa gênica; 3º vamos prospectar alguns aspectos relativos a biossegurança, bioproteção e sobre as normas internacionais envolvidas com a pesquisa com CRISPR-Cas9 para entender os gargalos regulatórios e os possíveis direcionamentos que se vislumbram; 4º faremos também um breve resgate do ambiente geopolítico, econômico e social global onde CRISPR-Cas9 se insere, seja como pesquisa, seja como produto biotecnológico, para contextualizá-la no mundo real; 5º além disso, vamos debater os requisitos de uma bioética para orientar a pesquisa com CRISPR-Cas9; 6º a partir dos quatro primeiros elementos, sob a perspectiva da bioética encontrada, vamos analisar os riscos e oportunidades que emergem da técnica.

Com efeito, este debate pode ser muito produtivo e interessante se a ética puder adentrar em questões que não raras vezes são tratadas como transitórias ou eminentemente técnicas e que acabam, via de regra, sendo debatidas em restritos círculos de especialistas. Neste sentido, ampliar o olhar sobre o processo de fazer ciência, fazer um esforço no sentido de sistematizar e integrar interdisciplinarmente o enorme conhecimento até aqui desenvolvido, inserindo-o no mundo real, ajuda a construir entendimentos e cenários mais pragmáticos e a buscar caminhos de convergência dentro da própria ciência e quiçá, no interior da sociedade. Chegaremos



ao ponto em que seremos compelidos a retomar antigas questões como: o que de fato a ciência pode<sup>3</sup> fazer e o que de fato a sociedade deseja que se faça? Que ser humano, que sociedade e que mundo estamos semeando para as gerações futuras? Existe uma fronteira ética que nem a ciência e nem a sociedade devem ultrapassar? Sob esta perspectiva, buscaremos neste trabalho analisar quais as ameaças e oportunidades que emergem do uso da técnica de edição gênica CRISPR-Cas9 e, a partir delas, explicitar os cenários possíveis que se vislumbram para a sociedade humana e para a vida no planeta

Utilizaremos como âncora teórica o pensamento de Van Rensselaer Potter (1911-2001) e Hans Jonas (1903-1993), precursores dos fundamentos da bioética global como a conhecemos hoje, por uma série de razões que discutiremos detidamente mais adiante. Antecipamos que consideramos o diálogo entre ambos não apenas possível, mas altamente proveitoso para o propósito de nossa empreitada. Cumpre assinalar também que a escolha destes autores traz consigo uma consequência adicional, um dever a que não poderemos nos furtar: ambos oferecem uma crítica contundente sobre a fragmentação do conhecimento como sendo uma das causas principais do quadro dramático de ameaças a que a humanidade chegou diante da tecnologia. Esta crítica, da maneira como é apresentada, não apenas fundamenta a análise, mas exige que a própria análise não concorra para e se revele uma fragmentação do conhecimento. Por via de consequência, isto nos impõe um método de trabalho que se compatibilize com a crítica.

Desta forma, assumimos desde logo o dever de fidelidade aos nossos âncoras teóricos e buscaremos realizar uma análise a mais completa, abrangente e integrativa possível dos vários conhecimentos disponíveis, de modo a evitar que a crítica reproduza o criticado, que de partida seria uma violação imperdoável aos princípios e fundamentos defendidos pelos autores. Evidentemente, a prudência nos recomenda que neste ponto asseveremos e reconheçamos os nossos limites para realizar o intento apontado, de modo que ficaremos altamente satisfeitos se conseguirmos não contribuir para o aumento do “conhecimento perigoso” e nos mantermos afastados da “ignorância perigosa”, mesmo que possamos não conseguir contribuir minimamente

---

<sup>3</sup> Utilizamos aqui o termo “pode” em duplo sentido: como capacidade e como dever.

para a construção do conhecimento sobre como administrar o conhecimento disponível, que Potter (2016) chamou de “sabedoria”.

## 1.1 PROBLEMATIZAÇÃO

Dito isto, podemos ir direto ao ponto de nosso problema: a ferramenta molecular de edição genética CRISPR-Cas9 é uma oportunidade (talvez a melhor e a mais factível produzida pela genialidade humana até o momento) de resolução para os problemas de saúde, para a cura de doenças adquiridas ou hereditárias e para o aperfeiçoamento das espécies, sobretudo a humana, ou é uma ameaça biológica para as gerações presente e futuras?

Convém também definir desde logo, o significado que adotaremos para o termo “problema” e, vinculativamente, para os termos “dilema” e “conflito”. Assumiremos o significado dialético do termo “problema”, no qual se localizam aquelas situações de dúvidas, de incertezas, no cediço terreno do provável, das possibilidades fáticas do mundo real, onde não há verdade absoluta e onde a contraposição de ideias e as contradições que delas emergem podem conduzir a conclusões bastante diversas do ponto de partida inicial, mas nem por isso menos reais ou inverossímeis. Nesse sentido, assumiremos o compromisso de tão somente promover o diálogo especulativo que possa explicitar caminhos para o futuro, e não uma direção.

Evidentemente, fica incluso neste conceito de problema a questão fundamental sobre se é possível se alcançar o conhecimento (a episteme, elemento estruturante da razão e do arbítrio). O que remete a reflexão sobre a existência ou não da Verdade, e uma vez existindo, se é possível capturá-la e submetê-la ao domínio da ética. De fato, a genética estabelece algumas verdades, como por exemplo, sobre a composição físico-química das moléculas de DNA (ATCG). Não obstante, como veremos, os diversos arranjos moleculares possíveis, as interações gênicas, a fenomenologia eletroquímica intra e intercelular e no organismo biológico como um todo, as interações com o meio ambiente e seus efeitos epigenéticos, levar-nos-ão a concluir que nessa discussão sobre edição genética, sociedade e meio ambiente, talvez não haja, ao menos por ora, nem verdades e nem certezas absolutas a serem alcançadas, e é justamente neste campo dialético do estudo dos problemas que emergirão as possibilidades de futuro, ou a sua impossibilidade, e sobre as quais sempre haverá a imperiosa necessidade de se fazer escolhas, mesmo porque optar

por não fazê-las já é por si só uma escolha. E escolhas, porque fazem parte do agir, diga-se de passagem, necessitam de uma plataforma ética que possa servir-lhes de orientação

Adotaremos o termo “dilema” como conceito conexo a problemas, que demandam escolhas e que oferecem dois ou mais caminhos alternativos, cujos resultados possíveis são todos necessariamente onerosos ou penosos e sobre os quais se há de escolher o que menor risco, prejuízo ou dano possa ocasionar. Diz-se necessariamente onerosos ou penosos porque se não o forem, não há dilema, há apenas um caminho bom e outro ruim, cuja escolha natural já estará dada de partida. Por fim, adotaremos para o conceito “conflito” as alternativas possíveis para aqueles problemas sobre os quais pelo menos uma delas vai ao encontro de interesses que favorecem de maneira direta ou indireta aqueles a quem recai a prerrogativa da escolha, em detrimento de outrem. Nestes casos, a isenção sobre tais escolhas será, via de regra, afetada e contaminada por interesses eticamente passíveis de questionamento e necessariamente acarretará prejuízos a pelo menos uma das demais partes envolvidas ou vantagem adicional a outra parte. Não raras vezes, problemas podem suscitar dilemas, cujas escolhas podem ser influenciadas por conflitos de interesses, e é nesse campo de reflexão que transitarão grande parte das questões bioéticas sobre edição genômica que serão tratadas neste estudo.

Estabelecido o significado que daremos aos conceitos, poderemos tratar com mais clareza o estudo das inúmeras possibilidades que a técnica CRISPR-Cas9 permite, as limitações do conhecimento científico atual sobre o genoma das espécies, incluindo-se o humano, e os potenciais conflitos éticos envolvidos e que suscitaram manifestações de parte da comunidade científica em favor de uma moratória (Baltimore, Baylis, *et al.*, 2015; Lanphier *et al.*, 2015), para que se possa avaliar melhor a segurança e os riscos envolvidos. Ciência e sociedade se deparam com um dilema difícil e complexo: os resultados possíveis (e nem sempre realizáveis) da pesquisa genética (em nosso caso, CRISPR-Cas9) valem os riscos potenciais envolvidos no caminho, ou é melhor buscar outros caminhos?

Convém à prudência que reconheçamos desde logo que alguns destes caminhos estão permeados de conflitos de interesses. De toda forma, deste questionamento abstraem-se outros, dos quais destacamos alguns: quais as consequências e custos sociais e ambientais que decorrem da escolha de cada caminho, de cada alternativa? Tais alternativas impactarão e influenciarão o futuro e

de que maneira? A humanidade está completamente ciente dos riscos e disposta a arcar com as consequências de cada escolha? A comunidade científica internacional dispõe de mecanismos de auto regulação, autogestão e autocontrole capazes de prevenir e coibir o uso inapropriado, indevido ou não ético deste conhecimento? Os governos, as instituições e a comunidade científica internacional estão de fato preparadas para lidar com eficiência, agilidade e rapidez para proteger a humanidade e o meio ambiente em situação de acidente ou incidente biológico em escala regional ou global, caso eles ocorram?

Das incertezas e incompletudes do conhecimento científico, das fragilidades e insuficiências das leis e da incapacidade da sociedade de enfrentar e superar os imensos problemas ambientais e humanitários criados por ela mesma, emerge o questionamento sobre a relevância, a complexidade e a amplitude das consequências do uso de conhecimentos como a ferramenta molecular de edição genética CRISPR-Cas9, que tem potencial para afetar toda a humanidade e comprometer as gerações futuras. Com efeito, parece apropriado considerar que é nesse mundo, nesse tempo e nessa sociedade que a discussão sobre edição gênica precisa e deve ser feita. Da mesma forma, não há como discutir em tese, *interna corporis*, exclusivamente nos meios acadêmicos e científicos os problemas como os que aqui serão tratados, suspendendo os interesses, influências e consequências do e no mundo real.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo geral

Feitas as breves considerações acima, podemos determinar que o objetivo deste trabalho foi analisar quais as ameaças e oportunidades que emergem do uso da técnica de edição gênica CRISPR-Cas9 e, a partir delas, os cenários possíveis que se vislumbram para a sociedade humana e para a vida no planeta sob a perspectiva da bioética global de Van Rensselaer Potter e da ética baseada na responsabilidade de Hans Jonas.

### 1.2.2 Objetivos específicos

No intuito de facilitar o alcance desse nosso objetivo central, nos auxiliaremos dos seguintes objetivos específicos: a) ordenar os fatores de risco e benefício

biológicos/genéticos, técnico/científicos, ambientais e sociais que emergem da técnica de edição gênica CRISPR-Cas9; b) avaliar os problemas, dilemas e conflitos que emergem dos fatores de riscos e benefícios indicados acima, levando em consideração as determinantes socioculturais, econômicas e geopolíticas de um mundo globalizado.

### 1.3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Neste trabalho nos propusemos a analisar as ameaças e oportunidades que decorrem da técnica CRISPR-Cas9 e analisar as implicações éticas envolvidas sob três abordagens distintas, mas interligadas: descritiva, prescritiva e analítica. Para tanto realizamos pesquisa bibliográfica exploratória narrativa interdisciplinar e transversal, estruturada em cinco grupos temáticos: 1) biologia, genética e afins: incluindo-se evolução, biologia, genética propriamente dita, epigenética, edição gênica, medicina, meio ambiente e pesquisas com CRISPR-Cas, entre outros; 2) Pesquisa & Desenvolvimento: com foco em biossegurança e bioproteção; 3) manifestações, recomendações e instrumentos normativos internacionais: onde serão tratados alguns aspectos relacionados a convenções, tratados, pactos, acordos internacionais e propostas de moratórias; 4) determinantes socioeconômicas e geopolíticas: com foco na equidade, justiça distributiva e acesso a bens sociais e tecnológicos em um mundo globalizado, e 5) fundamentos da bioética: a partir dos estudos em bioética de Van Rensselaer Potter e Hans Jonas. Lastreado nestes elementos, separamos os riscos e benefícios mapeados em três blocos: a) aqueles explicitados pelo conhecimento atual mais amplo; b) os que decorrem do processo de Pesquisa & Desenvolvimento e c) os que emergem dos produtos advindos da técnica.

Por fim, o presente estudo se justifica como uma contribuição ao debate público iniciado muito recentemente e ainda em curso acerca das ameaças e oportunidades que a técnica CRISPR-Cas9 representa para a sociedade humana e para a vida no planeta, sob a perspectiva da bioética. Não por acaso, a necessidade deste debate público tem sido a tônica indicada por diversos especialistas, tanto em manifestações individuais e coletivas. (Charo *et al.*, 2017; ONU - UNESCO, 2015a; Lanphier *et al.*, 2015; Baltimore, Baylis, *et al.*, 2015; Mathews *et al.*, 2015; Doudna, 2015a).

Parece apropriado resgatar a manifestação do *Organizing Committee for the International Summit on Human Gene Editing* (Comitê Organizador da Cúpula

Internacional sobre Edição de Genes Humanos), na *The National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine*, de dezembro de 2015, que tratou especificamente do tema CRISPR-Cas9 e indicou fortemente a importância e necessidade de um esforço da comunidade internacional no sentido de se convencionar normas para: "[...] edição de genes nas células das linhagens germinativas humanas e assim estimular a regulação harmônica entre os países, a fim de desencorajar atividades inaceitáveis acerca da saúde e o bem-estar humanos". (Baltimore, Baylis, *et al.*, 2015).

No mesmo sentido, a revista *Nature* de março de 2015, publicou artigo sob o título "Não edite células germinativas humanas", em que Edward Lanphier, Fyodor Urnov e outros cientistas advertem: "As modificações genéticas hereditárias humanas representam sérios riscos e os benefícios são tênues". No mesmo artigo também é apresentada singular proposta de moratória voluntária já citada. (Lanphier *et al.*, 2015, tradução nossa). Especialmente relevante foi a manifestação da própria Jennifer Doudna - que desenvolveu juntamente com a pesquisadora Emmanuelle Charpentier a técnica CRISPR-Cas9 - em artigo publicado na revista *Nature*, no mesmo mês de dezembro de 2015, na qual levantou importantes e necessárias reflexões sobre os riscos e impactos decorrentes do uso da técnica. (Doudna, 2015b).

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Ele [o cientista] não era mais capaz de dedicar o seu tempo às questões cósmicas ou a se preocupar com a verdade última. Estava convencido de que esta última não era possível e que as primeiras não eram nem importantes, nem úteis, nem tampouco interessantes. (Potter, 2016, p. 78).

Neste capítulo, em que iremos tratar de questões muito diversas e específicas de vários ramos das ciências, tais como antropologia, paleontologia, biologia evolutiva, genética, filosofia, direito, saúde global, economia, geopolítica, etc., há que se fazer algumas considerações que possam minimamente justificar esta abordagem e explicitar alguns dos significados e correlações que iremos estabelecer entre as mesmas.

Se CRISPR é um tema tão recente da biotecnologia, que na sua raiz como edição gênica, até bem pouco tempo era considerado como fronteira da ciência, por que razão então iremos tratar sobre teorias da evolução que remontam a bilhões de anos, ou de questões tão técnicas como epigenética e biossegurança, ou tão específicas como diversidade, variabilidade e imprevisibilidade, ou tão amplas como as determinantes sociais, geopolíticas e econômicas em um mundo globalizado, desigual, excludente e em conflito? Não seria mais produtivo irmos diretamente ao ponto: CRISPR é capaz de resolver “x” problemas, dentre os quais uns tantos que seriam eticamente aceitáveis e outros tantos que não, por tais razões! Seria bom essa abordagem sintética, quase minimalista, direta e terminativa se a questão fosse simples, o que de fato não é.

A vida como fenômeno da natureza, a complexidade da molécula de DNA, o papel das mutações no intrincado processo da evolução, a interação entre as espécies e o frágil equilíbrio do meio ambiente que suporta e sustenta a vida no planeta parecem estar muito além do conhecimento até agora acumulado. Estima-se que existam atualmente 8,7 milhões de espécies no planeta (variando 1,3 milhões a mais ou a menos), das quais apenas 1,2 milhões estão descritas e catalogadas<sup>4</sup>, o que representa apenas 13,8% do total, ou seja, não temos a menor ideia de quem sejam as outras 86,2% das espécies que coabitam este pequeno planeta conosco. (Mora *et al.*, 2011). Desta parcela conhecida, apenas um quantitativo ínfimo tem o seu código

---

<sup>4</sup> Consta que outras 700 mil espécies estão classificadas aguardando publicação. (Agência FAPESP, 2011).

genético mapeado. Isso nos faz refletir sobre o quão distante está o conhecimento humano de compreender o que é, como funciona e como evoluiu a vida nesse nosso planeta, quiçá prever para onde e como doravante, evoluirá. Não se passaram 60 anos desde que James Watson (1928-) e Francis Crick (1916-2004) apresentaram o modelo de estrutura da molécula de DNA e menos de 20 anos que o DNA humano foi sequenciado. (Corrêa, 2002). Dos 3,2 bilhões de pares de bases que compõe o genoma humano, possivelmente apenas 19 ou 20 mil genes, aproximadamente 3%, são codificantes de proteínas e são de alguma forma conhecidos e descritos, os outros 97% denominados por alguns de “dark matter” (matéria escura) são ainda um grande desafio, quiçá tão grande ou até maior que o próprio Projeto Genoma Humano (PGH). (Ezkurdia *et al.*, 2014; Maxmen, 2018). Talvez a maior revelação do PGH seja a descoberta de que a hereditariedade está além do código genético, que o ser humano (ou um repolho) não são apenas o resultado de um arranjo de pares de base e que outros fatores, em grande parte ainda pouco conhecidos e compreendidos, como a epigenética, concorrem para a formação de um ser vivo.

A primeira edição gênica realizada em laboratório com sucesso<sup>5</sup> tem apenas 46 anos e apenas 6 anos nos separam da descoberta de CRISPR-Cas9, e é justamente nesse ambiente que esta se desenvolve, onde o conhecimento que ainda falta a ser desenvolvido parece ser muito maior do que o que já foi alcançado, onde sobram dúvidas e faltam certezas. Fazendo uma comparação simples, é como se estivéssemos para decidir se vamos ou não fazer uma viagem intercontinental a bordo de um Boing 777 com um piloto que não sabe ler todos os instrumentos, alguns destes ele nem sabe que existem e não conhece com precisão todos os comandos e como eles operam a aeronave, embora seja capaz de ler o manual de operação da aeronave da primeira à última linha sem errar uma única letra.

A ciência desde sempre tem feito um esforço permanente para explicar a natureza e seus fenômenos, mas muito pouco tem avançado no sentido de compreendê-la. Disto decorre que podemos saber explicar com elevado grau de precisão a sequência de nucleotídeos do DNA, mas não compreendemos como isso se encaixa na dinâmica da vida.

---

<sup>5</sup> Paul Berg, Herbert Boyer e Stanley Cohen, nos anos de 1971 e 1972, realizaram com sucesso os primeiros experimentos de transferência de material genético de um organismo para outro, com subsequente processo de replicação e expressão gênica, com a técnica que ficou denominada DNA recombinante.



Ao mesmo tempo, não existe “O laboratório” e “O mundo” separados, não existe “Ciência” e “Sociedade” como universos paralelos, tudo que acontece em um interfere ou tem consequências no outro. Passado e futuro estão invariavelmente conectados pelo tempo presente e é justamente nessa dinâmica temporal e dialética que o debate precisa e deve ser feito. O espaço não tem compartimentos estanques com barreiras intransponíveis. A natureza é por essência globalizada, a vida que surge por toda a parte há bilhões de anos, de alguma forma compartilha sua genética com todos e evolui com esse aprendizado.

Se por um lado não sabemos ao certo de onde viemos e como chegamos até aqui, e reconhecemos, isso não faz diferença alguma do ponto de vista dos bilhões de anos que estão definitivamente no passado e sobre os quais nada podemos fazer, a não ser tentar conhecer e compreender, por outro lado isso faz toda a diferença na discussão sobre o futuro, não apenas da espécie humana, mas de toda a vida em nosso pequeno planeta. Tentaremos, pois, entender um pouco sobre a base científica e filosófica sobre a qual biólogos e geneticistas edificam e sustentam o conhecimento até aqui desenvolvido e como este conhecimento evoluiu historicamente para entender como ele se projeta no futuro. Afinal, quem olha o passado, mira o futuro.

Nessa discussão, não assumiremos postura ou preferência nem por criacionistas, nem por evolucionistas, tampouco pelas derivações ou variações conceituais que se originaram a partir destas matrizes teóricas. Não obstante, a compreensão de seus fundamentos e dogmas nos serão importantes, tanto para percebermos a dualidade latente na análise de algumas categorias de riscos e oportunidades que iremos tratar, como também para compreendermos que dessa discussão não superada e em aberto decorrem ambivalências e incertezas, não apenas nas explicações divergentes sobre como surgiu e evoluiu a vida em nosso planeta, mas também sobre como se dará esta evolução daqui para a frente, sobretudo a partir das ferramentas moleculares de edição gênica como CRISPR.

Também não adentraremos nas questões da evolução que se relacionam à religião, ainda que fundamentais sob o ponto de vista antropológico. Não obstante, não deixaremos de considerar a influência da mesma no processo de formação da moral, sobretudo nas sociedades contemporâneas e da influência que teve na consolidação da ciência moderna, ainda que em grande medida em sua contraposição.

Desta forma, estaremos sempre levando em conta as nuances históricas da evolução do pensamento humano, a partir do trinômio *homem – natureza - Deus* por várias razões, sobretudo pela influência que tais perspectivas exercem sobre o fazer ciência e sobre os parâmetros éticos que as impulsionam e as justificam. Ao mesmo tempo, não deixaremos de enfatizar a necessidade de superação dessa visão, marcadamente antropocêntrica, em direção a uma outra em que o homem não apenas se reconheça como parte não preferencial da natureza, mas sobretudo, em que a natureza seja percebida e reconhecida em si e por si mesma, para além categorias humanas. Este desafio impõe um outro código de valores próprio que não exclusivamente o humano, e que seja o resultado da integração dos valores intrínsecos e relativos de todas as espécies (ao menos daquelas 13,8% descritas e catalogadas), desafio este que também não iremos aprofundar, embora não possamos deixar de ao menos referir e reconhecer a sua necessidade.

Feitas estas considerações, vamos a seguir adentrar nas especificidades de cada questão.

## 2.1 A VIDA E O CONHECIMENTO CIENTÍFICO QUE SE TEM SOBRE ELA (EVOLUÇÃO, GENÉTICA, EDIÇÃO GÊNICA E CRISPR)

Como dizíamos, compreender os riscos e benefícios que envolvem CRISPR requer algum conhecimento mais específico, habitualmente denominado de conhecimento técnico ou especializado. No entanto, este aprofundamento a que nos referimos não deve ser confundido com afunilamento fragmentador do conhecimento no sentido tradicionalmente atribuído à alta especialização. Trata-se em verdade de uma ampliação pela via da incorporação transdisciplinar de conhecimentos especializados diferentes sobre um mesmo objeto de estudo. Tal conhecimento deve vir acompanhado de um esforço no sentido de estabelecer transversalmente conexões entre os mesmos que sejam capazes de construir saberes novos, que não seriam possíveis da maneira isolada como normalmente se dá a alta especialização. Isto nos permitirá não apenas compreender melhor o debate sobre questões recorrentes acerca dos problemas de CRISPR mais visíveis, como erros de edição, cortes fora do alvo e mosaicismos, como também avançar em direção a uma compreensão mais ampla da complexidade – vez que a conexão com outras pesquisas, outras ciências e conhecimentos possibilita uma visão mais abrangente e

completa dos fenômenos e o estabelecimento de interações e relações que estudos isolados eventualmente não possibilitam perceber -, que aliás será necessária se quisermos de fato identificar e compreender mais amplamente os problemas, o quão próximos ou distantes estamos de resolvê-los e que implicações éticas decorrem dos mesmos. Começaremos falando um pouco sobre os fundamentos da edição genética a partir da evolução e suas teorias e, em seguida, traremos um breve resumo sobre ferramentas moleculares para estudo e edição de genes, incluindo CRISPR. Dada a extensão dos conhecimentos que precisam ser incorporados à discussão, muito além do que será possível considerar neste trabalho, é oportuno advertirmos que outros conhecimentos, além dos que aqui trataremos, precisam ser agregados, tanto da própria genética e da biologia, como de outras áreas como a biofísica, a bioquímica e a geologia, entre outros, que certamente muito tem a contribuir para a formação de uma visão mais ampla e crítica da questão.

### **2.1.1 Evolução: o caminho da vida**

Em 1950, a teoria sintética já era aceita de maneira universal entre biólogos de todas as áreas, e as controvérsias se limitavam aos pormenores no interior da teoria. [...] Assim, a síntese neodarwinista se mostrou uma teoria aparentemente coerente e capaz de explicar definitivamente a evolução das espécies. Cem anos após a publicação de *A Origem das Espécies*, a teoria sintética contava com a adesão sem reservas da maioria dos biólogos e cientistas de todas as áreas. (Felizardo, 2006, p. 29).

Acredita-se que existam dois trilhões de galáxias em todo o universo. Apenas a Via Láctea, nosso “quintal”, deve ter 400 bilhões de estrelas, do que é razoável supor que a quantidade de estrelas e planetas em todo o universo, com seus 47 bilhões de anos seja algo inimaginável. A Terra, esse nosso pequeno planeta, tem algo em torno de apenas 4,54 bilhões de anos, ou seja, menos de 10% da idade do cosmos e apesar disso, imaginamos que estamos sozinhos no universo e alguns até ousam crer que somos o vórtice central da criação, ou se preferir, da evolução.

Estima-se que a primeira forma de vida nesse nosso pequeno e jovem planeta tenha surgido por volta dos 3,5 bilhões de anos atrás, em meio a um ambiente geologicamente adverso e improvável para a vida. O passo evolutivo desta primeira forma de vida para o surgimento do primeiro organismo multicelular deve ter ocorrido a aproximadamente 500 milhões de anos. Somente há 15 milhões de anos é que surgiu o primeiro homínídeo. Os primeiros *Homo sapiens sapiens*, dos quais descendemos surgiram há cerca de 7 milhões de anos. Nossos ancestrais começaram

a produzir ferramentas de corte feitas de pedras (portanto tecnologia, ainda que primitiva e feita oportunisticamente) há uns 2,5 milhões de anos (denominada tecnologia olduvaiana). Presume-se que há 1,7 milhão de anos o *Homo erectus* primitivo já estava desenvolvendo comportamento de cuidados com a prole, e talvez o embrião de uma formação social. Há 1,4 milhão de anos surgem as primeiras ferramentas que denotam o uso de modelos mentais para sua produção (é a chamada indústria acheulense), ao passo que o homem moderno atual, com todas as características que conhecemos, tem apenas 40 mil anos. (Leakey, 1997).

O surgimento da escrita estima-se em 20 mil anos. O conhecimento da matemática e da geometria datam de alguns poucos séculos antes de Cristo. As Leis da Física têm apenas 3 séculos. O conhecimento da estrutura da molécula de DNA é uma senhora de menos de um século e a capacidade de editá-la é uma jovem ainda em formação. Essa escala de tempo não tem utilidade científica alguma, mas nos faz refletir sobre o pouco que sabemos e sobre a imensidão do caminho que a vida percorreu para chegar até aqui, caminho este do qual participamos apenas de uma pequena parte, somos apenas passageiros nessa jornada e essa é uma condição que não há como mudar.

Como explicar então o surgimento tão improvável da vida em um planeta tão insignificante diante da imensidão do universo? Como explicar a vida neste longo e intrincado processo desde há 3,5 bilhões de anos até chegarmos ao mundo como o conhecemos hoje? Que sentido prático tem o esforço humano dos últimos 5 ou 6 mil anos, ao menos do que se tem registro, em responder questões como estas? Talvez a resposta que mais sentido faça seja a que de que ao olhar para o nosso passado, miramos para o nosso futuro:

Há 2 milhões de anos, o Homo coexistia com diversas espécies de Australopithecus na África Oriental e do Sul. Mas 1 milhão de anos mais tarde, o Homo estava em isolamento esplêndido, tendo as várias espécies australopithecíneas se tornado extintas. Somos inclinados a pensar na extinção como a marca do fracasso - como algo que acontece a uma espécie que de algum modo não correspondeu aos desafios que a natureza lhe apresentou. Na verdade, a extinção parece ser o destino final de todas as espécies: mais de 99,9 por cento de todas as espécies que já existiram estão agora extintas - provavelmente tanto em consequência de má sorte quanto de genes ruins". (Leakey, 1997, p. 64).

Nestes últimos dois séculos várias teorias explicativas foram apresentadas. A Teoria da Evolução das Espécies de Charles Darwin, que mais tarde é revista e aperfeiçoada e passa a ser conhecida como Teoria Sintética da Evolução ou

Neodarwinismo é a que alcançou ampla aceitação da comunidade científica e serve de fundamento teórico para a biologia e, por conseguinte, para a pesquisa gênica. Vários esforços, como a Teoria do Equilíbrio Pontuado, têm sido apresentados no intuito de superar dificuldades no seu interior. Além desta, outras teorias de menor aceitação no meio científico, como o Criacionismo e o Design Inteligente oferecem perspectivas distintas. Dada a importância que vários conceitos próprios da área têm para a nossa discussão, bem como da especificidade da linguagem própria corrente nas pesquisas que doravante faremos referência, sobretudo da Teoria da Evolução conforme Futuyma, incluindo o pensamento Lamarckista, apresentamos no apêndice A um resumo das mesmas e recomendamos fortemente a sua leitura antes de seguirmos adiante.

Mas afinal, pergunta Futuyma: “A evolução é um fato, uma teoria ou uma hipótese?” Ao que conclui: “[...] a evolução é um fato científico. No entanto, ela é explicada pela teoria evolutiva”<sup>6</sup>. (Futuyma, 1992, p. 10). Esclarecedora é sua afirmação de que: “os principais dogmas<sup>7</sup> da teoria evolutiva são tão bem sustentados que a maioria dos biólogos de hoje os aceitam com confiança”. (Futuyma, 1992, p. 12). O próprio Futuyma (1992), seguido por Felizardo (2006), conclui que a Teoria da Evolução é a grande teoria unificadora de todos os campos das ciências biológicas. Não por acaso Dobzhansky (1973) escreveu: “*Nothing in biology makes sense except in the light of evolution*” (“Nada na biologia faz sentido exceto à luz da evolução”, tradução nossa). Não obstante, ao tratar das causas da evolução, Futuyma considera

---

<sup>6</sup> Ao formular a pergunta se “A evolução é um fato, uma teoria ou uma hipótese?” Futuyma assim define fato, hipótese e teoria: “[...] fato é uma hipótese tão fortemente sustentada pela evidência que nós o supomos como verdadeiro, e agimos como se fosse verdadeiro [...] hipótese é uma afirmação do que poderia ser verdade [...] [teoria] é um esquema de ideias interconectadas, fortemente sustentadas pela evidência que explica uma grande variedade de fenômenos”. (Futuyma, 1992, p. 10–11).

<sup>7</sup> Visto que utilizamos algumas vezes o termo “dogma” aqui e no Apêndice A, é oportuno explicitar que significado assumimos para o mesmo. Mais comumente empregado em contexto religioso, mas não apenas, um dogma é um princípio fundamental de uma crença ou teoria que não pode ser provado, mas que precisa ser aceito incondicionalmente pois sustenta toda a estrutura conceitual da mesma. Darwin utiliza o termo dogma neste sentido várias vezes em sua obra “A Origem das Espécies” para se referir não apenas às teorias criacionistas, mas a sua própria teoria e é neste sentido que o empregamos, uma vez que todas as teorias aqui apresentadas, indistintamente, contém algum princípio ou postulado fundamental que não foi plenamente comprovado pela própria ciência e cuja aceitação incondicional equivale, por assim dizer, a um ato de crença. Evidentemente não ignoramos o contexto histórico em que Darwin utiliza este termo em sua obra, mas como salienta Felizardo (2006), darwinistas propuseram superar os dogmas criacionistas, neodarwinistas propuseram superar os dogmas darwinistas, pós-neodarwinistas como Stephen Jay Gould (sé é que assim podemos denominá-los) se propõe a superar os dogmas neodarwinistas, e assim caminha a saga humana para explicar o seu passado.

que são ainda um desafio não superado, aliás, não apenas este, como assinalam também vários neodarwinistas. Dadas assertivas tão contundentes urge perguntar: quais são estes dogmas?

Citemos três: o primeiro dogma é o da hereditariedade evolutiva: todas as espécies são descendentes modificados aleatoriamente (variabilidade individual) de ancestrais comuns. O segundo é o da seleção natural como mecanismo principal, como diretriz da evolução. O terceiro é o de que a evolução é lenta e gradual. Dessa forma, a evolução é o produto da seleção natural atuando lenta e gradualmente sobre a geração de descendentes modificados<sup>8</sup>. Importante notar neste conceito, que o indivíduo com modificação é a base da evolução, nele atua a seleção natural e nele, portanto residem todas as possibilidades de sobrevivência (ou extinção). (Felizardo, 2006). Essa primazia do indivíduo, que a partir da teoria evolutiva é atualizada pela Teoria Sintética para um ponto focal mais específico dentro do indivíduo, o gene, é especialmente importante para a nossa discussão, visto que toda edição gênica com CRISPR é focada no indivíduo-gene, seja ele como meio de transporte (a bactéria por exemplo) ou como organismo alvo. Iremos retomar esta questão mais adiante.<sup>9</sup>

Num esforço de superar as limitações originais da teoria da evolução, os neodarwinistas aperfeiçoaram dois conceitos: o gradualismo e o adaptacionismo, nos quais a evolução seria lenta, contínua e gradual (milhares de anos), e completamente adaptada ao ambiente que muda em cada momento, de modo que haveriam imensas cadeias de fenótipos evolutivos conectando a ancestralidade das espécies. Em algum momento tais mudanças se acumulariam em tal proporção que tais indivíduos não conseguiriam mais se reproduzir com outros de sua espécie original, gerando assim novas espécies. (Felizardo, 2006).

---

<sup>8</sup> O conceito de deriva genética foi inicialmente proposto por Sewall Green Wright (1889 — 1988) em 1929, como um mecanismo aleatório de mutações gênicas no campo microevolutivo, que concorreria para a seleção natural e teria maior ênfase na genética de populações e complementaria a proposta do gradualismo darwinista.

<sup>9</sup> Neste sentido, Neodarwinistas, a partir dos conhecimentos acumulados, especialmente pela genética, principalmente a genética evolutiva e de populações, determinam não o fenótipo, mas o gene como o locus privilegiado da evolução (Felizardo, 2006). Williams vai afirmar que: “É no nível do gene, no entanto, que temos a compreensão da adaptação mais fundamental e universalmente aplicável”. (Williams, 1966, p. 71, tradução nossa).

Ainda segundo o autor, a partir de Mendel<sup>10</sup>, a evolução das pesquisas no campo da genética, principalmente a respeito da hereditariedade, se somam a outros conhecimentos no campo da biologia, como a genética de populações e a biologia molecular que mais tarde se integram às disciplinas tradicionais como história natural, a paleontologia, morfologia e a botânica clássica, para formar a base da Teoria Sintética da Evolução, ou Neodarwinismo:

Em 1950, a teoria sintética já era aceita de maneira universal entre biólogos de todas as áreas, e as controvérsias se limitavam aos pormenores no interior da teoria<sup>11</sup>. [...] Assim, a síntese neodarwinista se mostrou uma teoria aparentemente coerente e capaz de explicar definitivamente a evolução das espécies. Cem anos após a publicação de *A Origem das Espécies*, a teoria sintética contava com a adesão sem reservas da maioria dos biólogos e cientistas de todas as áreas. (Felizardo, 2006, p. 29).

O autor chama a atenção para o fato de que “atualmente existe uma tendência aberta pelos vários críticos do adaptacionismo em dividir o estudo evolutivo em microevolução e macroevolução<sup>12</sup>”. (Felizardo, 2006, p. 31). Não entraremos nos detalhes dessa crítica, nos bastará apenas salientar que para alguns destes estudiosos a macroevolução é o resultado de microevoluções acumuladas ao longo de milhares de anos e para outros tais mecanismos são distintos. De toda forma, nos interessa resgatar a ideia contida no programa adaptacionista:

“[...] a adaptação é a estratégia que um organismo desenvolve, mediante a seleção natural, ao longo de muitas gerações, para solucionar os problemas de sobrevivência e reprodução que enfrenta. O desenvolvimento evolutivo do organismo e de todas as suas partes resulta da seleção natural aplicada à

---

<sup>10</sup> Os estudos de Mendel têm importância capital para o desenvolvimento da genética como a conhecemos hoje. Vogel e Motulsky destacam três contribuições fundamentais de Mendel: “1. Ele simplificou o enfoque experimental selecionando características com distribuições alternativas claras, as examinou uma a uma, e só então passou para combinações mais complicadas. 2. Ao avaliar seus resultados, ele não se contentou com afirmativas qualitativas, mas contou os tipos diferentes. Isto o levou a uma base estatística que controla estes fenômenos. 3. Ele sugeriu a interpretação biológica correta para este princípio estatístico: as células germinativas representam as formas constantes que podem ser deduzidas a partir destes experimentos”. (Vogel e Motulsky, 2000, p. 11, tradução nossa).

<sup>11</sup> Exemplo interessante da consequência da confiança plena à Teoria da Evolução é relatado por Leakey ao tratar do estudo antropológico de exemplares de *Ramapithecus*, a partir da presunção de traços específicos: “O caso do *Ramapithecus* mudou a antropologia de duas maneiras. Primeiro, demonstrou os perigos da inferência de uma relação evolutiva em comum a partir de características anatômicas em comum. Segundo, expôs a loucura de uma aderência cega ao “pacote” darwiniano. Simons e Pilbeam imputaram um estilo de vida completo ao *Ramapithecus*, com base na forma dos dentes caninos: se havia uma característica hominídea, supunha-se que todas estas características estavam presentes. Como consequência da erosão do status de hominídeo do *Ramapithecus*, os antropólogos começaram a ficar inseguros em relação ao pacote darwiniano”. (Leakey, 1997, p. 21).

<sup>12</sup> “Pequenas variações no interior de uma mesma espécie caracterizam a microevolução. Mudanças maiores, como quando uma nova espécie ou filo é formado, são chamadas de macroevolução”. (Felizardo, 2006, p. 31).

variabilidade genética dos organismos de determinada população”. (Felizardo, 2006, p. 38).

Futuyma, ao tratar de biologia evolutiva, aponta que a confiança em tais princípios passa a ser de tal ordem que fundamenta estudos nas mais variadas áreas:

Ao estudar o vírus da imunodeficiência humana (HIV) que causa a AIDS, biólogos evolutivos usaram métodos filogenéticos para traçar sua origem e propagação e colaboraram com os cientistas médicos no estudo das mudanças evolutivas da resistência às drogas pelas quais o vírus passa dentro do indivíduo portador [...] A análise das adaptações aponta em direção às espécies que podem ter "resolvido um problema" que nós, também, desejamos resolver. Se você quiser uma enzima termoestável, faz sentido procurá-la em bactérias de águas quentes; se você quiser um composto que proteja grãos contra os insetos, talvez uma planta bem-defendida lhe forneça isso. (Futuyma, 1992, p. 6–7).

Não por acaso Dennett, faz uma declaração capital:

“O raciocínio adaptacionista não é opcional; ele é a alma da biologia evolutiva. Embora possa ser suplementado, e suas falhas consertadas, acho que deslocá-lo de sua posição central na biologia é imaginar não só a ruína do darwinismo como o colapso da bioquímica moderna e de todas as ciências da vida e da medicina”. (Dennett, 1998, p. 247).

Curiosamente, as palavras de Leakey, que expressava seu pensamento acerca do debate travado até aquele momento sobre as origens do homem moderno, muito bem cabem para o que até discutimos aqui e no Apêndice A:

“Como já disse, aqui há muito mais em jogo do que a reconstrução da pré-história. A visão de nós mesmos e do nosso lugar na natureza também está em jogo”. (Leakey, 1997, p. 133).

De fato, parece que possivelmente sobreviver e replicar sejam as duas palavras que melhor expressem os propósitos da evolução e com efeito, “como” e “tempo” são dois elementos singulares para entendermos o futuro, não apenas o nosso, mas da vida como um todo em nosso planeta. E note-se que o termo evolução aqui aplicado não deve ser confundido com o termo progresso (de fundamentação positivista), vez que o senso comum não raras vezes trata os dois termos como se expressassem uma mesma ideia. Evolução como estamos empregando, deve ser um conceito amoral e associado a ideia de mudanças que ocorrem entre gerações e que resultam na sobrevivência do mais apto, não necessariamente do mais complexo ou do mais sofisticado, não tem caráter antropocêntrico e evidentemente não tem nenhuma relação com tecnologia.



## 2.1.2 Biologia da vida e a genética

Podemos concluir que as razões daquele êxito que é a sobrevivência não são as megatoneladas de matéria viva, mas sim a flexibilidade e a diversidade; não é a concorrência, compreendida como luta sangrenta, mas sim uma mistura criativa entre cooperação e concorrência. (Kesselring, 2000, p. 171).

Resgatando o discutido até aqui, das muitas questões que permeiam o debate sobre os primórdios da vida na terra, três são centrais: 1º como a vida surgiu; 2º ela evoluiu ou é a mesma desde o seu surgimento? e, 3º Afinal, a vida é um acidente da natureza, um ato da vontade de Deus ou o produto meticuloso de uma inteligência superior, um “designer”, um “arquiteto”? E que importância isso tem para a nossa discussão? Há décadas pesquisadores de linhas distintas buscam evidências que comprovem suas teorias. Em linhas gerais, ao menos entre criacionistas, evolucionistas e adeptos do Design Inteligente, aceitar uma delas pode excluir a outra. Os reflexos dessa escolha têm impactos profundos na ciência como um todo, em especial na genética, bem como na compreensão que temos sobre a vida existente hoje no nosso planeta, e isso tem repercussões importantes no entendimento dos riscos envolvidos nos processos de edição gênica e nas abordagens de biossegurança que delas decorrem.

Apenas para citar um exemplo, uma das estratégias de biossegurança utilizada ao editar genes em determinados microrganismos consiste em implementar barreiras biológicas, por exemplo para biocontenção de OGMs, através de estratégias moleculares para restrição da vida sintética a ambientes controlados, que na verdade são barreiras em nível genético: um dos genes editados pode ser preparado para manifestar determinada característica que expressa dependência de condição específica e exclusiva do meio ambiente para o qual ele foi projetado para atuar e que seja, ao mesmo tempo, vital para a sobrevivência do indivíduo e que, não sendo atendida, causa sua morte. Uma aplicação prática clássica é a biorremediação de acidentes com petróleo e derivados: é possível editar em laboratório o DNA de determinado fungo ou bactéria degradadora de petróleo e inserir duas características: a primeira para criar a capacidade de degradar hidrocarbonetos como condição obrigatória, e a segunda pode impor que na ausência deste elemento, o microrganismo morre; dessa forma ele morrerá quando o petróleo acabar em decorrência de qualquer das duas condições. Fato é que a vida evolui a partir dos desafios do ambiente, de modo que alguns destes microrganismos possivelmente

sofrerão altas taxas de mutações e alguns deles talvez consigam suplantar as limitações programadas em seus genes e sobreviver e, quem sabe, alcançarão os reservatórios naturais de petróleo, o resultado é óbvio. Evidentemente, terão aqueles que se apegam às estatísticas e dirão que embora o risco exista, é estatisticamente improvável. Não obstante, o surgimento da vida em nosso planeta também era estatisticamente improvável.

Dito de outra forma, a teoria explicativa que fundamenta o surgimento da vida na terra, hegemonicamente a Teoria Evolucionista, influência de maneira importante a maneira como biólogos e geneticistas entendem e justificam seus experimentos, projetam os riscos e benefícios potenciais esperados e a maneira de lidar com eles.

Discutiremos a seguir outros aspectos relacionados à evolução e que assumem importância especial na reflexão sobre CRISPR: a) genética; b) DNA e RNA; c) epigenética e, 4) diversidade, variabilidade e imprevisibilidade. Não é nosso propósito abordar estes temas com a profundidade que o fazem os biólogos e geneticistas, mas tão somente trazer à tona alguns aspectos que serão relevantes para a discussão proposta.

### 2.1.2.1 Genética

Parece impossível fazer ciência sem metáforas. Desde o século XVIII a biologia vem sendo uma elaboração da metáfora original de Descartes para o organismo como uma máquina. Mas o uso de metáforas carrega consigo a consequência de que construímos nossa visão do mundo e formulamos nossos métodos para sua análise como se a metáfora fosse a própria coisa. Há muito que o organismo deixou de ser visto como uma máquina e passou a ser enunciado como sendo uma máquina<sup>13,14</sup>. (Lewontin, 2001, p. 1, tradução nossa).

---

<sup>13</sup> Apesar das críticas ao uso do termo “máquina” para se referir ao organismo e aos componentes intracelulares, por se tratar de um debate de amplitude que vai muito além de nosso propósito, nos limitaremos a evidenciar algumas delas no decorrer das próximas páginas, sem contudo ousar propor uma terminologia diferente do tradicional, mesmo porque o seu uso ajuda a demarcar alguns dos problemas.

<sup>14</sup> Leite recupera interessante informação histórica: “Esse modo de pensar que marcaria a genética e a biologia molecular havia sido forjado ainda antes da descoberta da estrutura do DNA em dupla hélice (no ano de 1953) e até mesmo antes da comprovação de que era o DNA, e não uma ou mais proteínas, a substância portadora da hereditariedade genética (1944); sua matriz se encontra num célebre e influente livro, escrito em 1944 (publicado em 1946), não por um biólogo, mas por um físico, e logo um prócer da mecânica quântica, ninguém menos que Erwin Schrödinger, autor de *What is life?*, no qual lança a noção de que o “sólido aperiódico” capaz de conter de maneira cifrada as informações hereditárias teria de reunir numa mesma entidade duas funções que, na metáfora, necessariamente vêm separadas: as plantas do arquiteto e a mão de obra do construtor”. (Leite, 2006, p. 7). O texto original de Schrodinger consta: “*The chromosome structures are at the same time*

Todos os seres vivos existentes nesse nosso pequeno planeta têm uma estrutura básica comum (vide Apêndice B): são todos baseados em carbono e tem a mesma estrutura molecular fundamental, os ácidos nucleicos, que se supõe sejam responsáveis pela formação, funcionamento e replicação de todo organismo, de todo fenótipo. Sob certa perspectiva, DNA e o RNA nada mais são do que um conjunto de cinco elementos químicos (carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e fósforo), organizados em um açúcar (pentose = desoxirribose), um grupo fosfato e uma base nitrogenada (Adenina–Timina/Uracila e Guanina–Citosina) que formam os chamados nucleotídeos, que reagem em função da eletricidade, da temperatura e do PH do meio celular. (Cruz, 2011). Isso nos faz profundamente iguais e infinitamente diferentes. Se os evolucionistas estiverem certo, uma única estrutura *mater*, submetida a condições ambientais diferentes (que nada mais são do que variações físico-químicas) no decorrer de bilhões de anos, foi capaz de produzir milhões de espécies diferentes, num infundável processo de criação e extinção.

Estima-se, conforme citamos anteriormente, que existam hoje 8,7 milhões de espécies. (Mora *et al.*, 2011). Somos apenas uma delas. Compartilhamos 40% de DNA com repolhos, 60% com a mosca da fruta (*Drosophila melanogaster*) e 98,8% do DNA com os símios bonobos e chimpanzés. Em nossa própria espécie, compartilhamos 99,9% do mesmo DNA, de modo que nossas diferenças estão em apenas 0,1%, e mesmo gêmeos univitelinos, que compartilham 100% do seu material genético, ainda assim, são singularmente diferentes nessa igualdade. Esta singularidade, denominada *paradoxo do valor C*, diz que essa similaridade estrutural no nível dos nucleotídeos do genoma é universal, e é exatamente isto que permite que técnicas de edição como CRISPR possam ser utilizadas em virtualmente qualquer genoma. (Gregory, 2005).

O tamanho do genoma das espécies aparentemente não representa em absoluto nenhuma superioridade, nem do ponto de vista biológico e nem evolutivo: as lombrigas tem 19 mil genes (tanto quanto nós humanos), a nossa pequena conhecida *Drosophila melanogaster* tem 13,6 mil genes, o agrião (*Arabidopsis thaliana*) tem 25,5

---

*instrumental in bringing about the development they foreshadow. They are law-code and executive poweror, to use another simile, they are architect's plan and builder's craftin on* (“As estruturas cromossômicas são ao mesmo tempo instrumentais em trazer o desenvolvimento que elas prefiguram. Elas são o código-lei e o poder executivo, para usar outro símile, elas são o plano do arquiteto e o empreendimento do construtor”). (Schrodinger, 1944, p. 8, tradução nossa).

mil genes, e a *Amoeba dúbia* (*Polychaos dubium*) tem o maior genoma conhecido, 200 vezes maior que o humano. (Gee, 2001; Ojopi *et al.*, 2004). Isto não confere a nenhuma destas espécies o privilégio da razão; não obstante, parece lhes conferir a capacidade de sobreviver para além dela.

Neto (2012) e Leite (2006) nos diziam que a biologia molecular tinha um dogma: a síntese da vida seria *DNA* → *RNA* → *Proteína*, aliás, num fluxo em sentido unidirecional (5' → 3'), e apesar do que isso possa significar, apenas algo em torno de 3% do nosso DNA codifica proteínas, o restante é ainda uma incógnita<sup>15</sup> (vide Apêndice B), designado em certo momento de “lixo genético”<sup>16</sup> (Gee, 2001); possivelmente, diziam, “resíduo evolutivo”. Alguns denominam essa parte não codificante de “dark matter”. O dogma, como pensado inicialmente já não vale mais, vem sendo atualizado e reescrito conforme a ciência avança o conhecimento sobre os processos essenciais de tradução e replicação dos ácidos nucleicos<sup>17</sup>. Aliás, o próprio sistema CRISPR-Cas é um exemplo de transcrição reversa. Curiosidades à

---

<sup>15</sup> Apropriado registrar que seguem em curso diversas iniciativas no sentido de conhecer e entender se e que papel desempenham os 97% não codificante do DNA humano, ainda que os resultados sejam muito iniciais. Apenas a título de exemplo, o *The ENCODE Project Consortium* publicou em 2012, na revista *Nature*, interessante artigo intitulado “*An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome*”, no qual se registram alguns resultados promissores que apontam para o papel regulador de expressão gênica dessa imensa região ainda desconhecida. (Chi, 2016; ENCODE Project Consortium, 2012). A renomada Revista *Science* publicou interessante matéria relatando estudo de David Haussler, bioinformático da Universidade da Califórnia, em Santa Cruz, e colegas, em genética evolutiva, visando esclarecer se haveria uma região no genoma humano que pudesse indicar qual ou quais genes poderiam ser responsáveis pelo salto evolutivo da massa cerebral de nossos ancestrais símios dos 0,5 para os nossos atuais 1,4 litros, sugerindo que quatro genes associados ao mecanismo NOTCH/NOTCH2NL, responsável pela regulação do processo de duplicação das células tronco podem ser a causa da evolução desse órgão: em um dado momento da evolução, uma alteração nesse mecanismo teria atrasado o processo de interrupção da duplicação de células tronco embrionárias que irão se especializar em neurônios, permitindo que o cérebro pudesse expandir, ocasionando uma massa cerebral três vezes maior. (Pennisi, 2018). Percharde *et al.* (2018) indicam que metade desse “lixo genético”, composto por *transposon*, ou “genes saltadores” - que por algum tempo foram vistos como parasitas genômicos (Gee, 2001), em função de sua capacidade de se reposicionar ou se duplicar em posições diferente no genoma -, podem ter papel fundamental no desenvolvimento embrionário, sobretudo durante a fase de duplicação de duas para quatro células. Além disso, relatam que em torno de 25% dos genes que cumprem função regulatória, ativando ou desativando outros genes, contém fragmentos de *transposon*, sugerindo que os mesmos possam ter cumprido papel evolutivo importante na configuração do nosso genoma atual. Talvez, e apenas talvez, especulamos, possa existir alguma relação entre essa região não codificante com alguns genes que expliquem a evolução de nossa massa cerebral.

<sup>16</sup> O termo “lixo genético” (utilizado em inglês como “*dark matter*” ou “*junk DNA*”), é atribuído a Susumi Ohno, que empregou o termo em artigo publicado em 1972, no *Simpósio Brookhaven* sobre Biologia em 1972, que o utilizou para se referir à parte do DNA que mais tarde, no PGH havia sido inicialmente identificada como não codificante e para a qual, naquele momento se supôs não desempenhava função alguma no contexto genômico. (Ohno, 2012).

<sup>17</sup> A transcrição reversa começou a ser proposta a partir da descoberta de que Príons, uma proteína infectante sem material genético poderia se ligar ao DNA. (Alper *et al.*, 1967; Griffith, 1967; Prusiner, 1982).

parte, um experimento com ratos identificou relação entre esse “lixo genético” e o desenvolvimento do cérebro (Dickel *et al.*, 2018; Maxmen, 2018), e não param de surgir pesquisas indicando outras relações e funções para esta imensa região genômica. Importante reforçar que grande parte dos erros de edição fora do alvo ocorrem nesta região ainda desconhecida (que no caso humano corresponde a 97% do genoma), de modo que os reflexos possíveis nestes casos são em geral amplamente imprevisíveis.

#### 2.1.2.2 Casos emblemáticos e atuais de evolução

Trataremos a seguir de três exemplos singulares de como a adaptação e evolução atuam e que consequências trazem para várias espécies, inclusive a nossa. O primeiro diz respeito à conhecida Peste Negra, o segundo diz respeito à mobilidade de vetores carreadores de microrganismos em evolução, e o terceiro ao gene de resistência antimicrobiana *mcr-1*. Merece destaque o fato de que tais processos evolutivos estão acontecendo não apenas para os casos citados, mas amplamente em todo o ecossistema e possivelmente muitos destes tem consequências importantes não apenas para o meio ambiente e eventualmente para a saúde humana, mas também para a edição de genes, em especial no que se refere à biossegurança.

O estudo de Barros (2012) sobre a famosa Peste Negra, causada pela bactéria *Yersinia pestis*, que levou à morte milhões de seres humanos<sup>18</sup> nos últimos dois 2.500 anos, em vários eventos epidêmicos e pandêmicos, é exemplar no entendimento de como pequenas modificações genômicas (neste caso evolutivas) em curto espaço de tempo, podem produzir indivíduos com elevada capacidade infecciosa e altíssima letalidade, inclusive para humanos. Equivocadamente

---

<sup>18</sup> Possíveis relatos de casos da peste na antiguidade são encontrados em escritos como o Antigo Testamento (II Livro de Samuel). Atenas, em 430 a.C., durante a guerra do Peloponeso, registra o primeiro surto com aproximadamente 300 mil mortes. Na Era Cristã são registrados três grandes eventos pandêmicos: o primeiro, denominado de “Peste de Justiniano”, iniciou-se na África e atingiu o continente europeu e asiático. Entre os anos de 558 a 654 d.C., sucessivas epidemias resultaram em 100 milhões de mortes. O segundo evento pandêmico, que deu origem ao nome Peste Negra iniciou-se na Ásia e se estendeu por toda Europa e Norte da África, em quatro anos (1347 a 1351), dizimou 40% da população europeia. O terceiro evento pandêmico, também chamado “Pandemia Contemporânea” iniciou na província de Yunnan, na China, em 1855, de onde se propagou para outros continentes (inclusive o Brasil) através do transporte. (Barros, 2012).

considerada extinta<sup>19</sup>, a bactéria ainda circula livremente e evoluindo em vários países da África, Ásia e Continente Americano, inclusive no Brasil, onde os últimos casos atingindo humanos foram registrados em 1997 e 2005, no Estado do Ceará. Estudos indicam que a evolução de isolados de *Y. pestis* decorre de *Y. pseudotuberculosis* em período muito recente, entre 1.500 (ou 2.500 para conformar com os primeiros registros de ocorrências) e 20.000 anos. O agente etiológico é uma bactéria Gram-negativa da família *Enterobacteriaceae*, cujo gênero engloba 3 espécies patogênicas (*Y. pestis*, *Y. enterocolitica* e *Y. pseudotuberculosis*) e 14 não-patogênicas (ambientais) – há uma discussão acerca da inclusão de *Y. ruckeri* no grupo patógeno que não tem relevância para a nossa discussão. Embora sejam clínica e epidemiologicamente diferentes, duas (*Y. pseudotuberculosis* e *Y. pestis*) das três espécies patogênicas são geneticamente muito próximas. Estudos sugerem que a ausência de um prófago<sup>20</sup> (*YpfPhi*) no biovar<sup>21</sup> *Microtus*, mutações nos genes de virulência, como *yopM* e *pla*, e distribuição de pseudogenes podem explicar avirulência do mesmo em humanos. Transmitida pela picada da pulga infectada<sup>22</sup>, principal mecanismo de contágio, mais de 80 diferentes espécies do inseto e 200 roedores participam do ciclo epidemiológico. Embora as aves sejam resistentes à peste, servem como meio de transporte de pulgas (tema que iremos tratar logo a seguir) ou carcaças infectadas para outras localidades. Em humanos, as taxas de mortalidade variam de acordo com a forma clínica da doença, variando de 20 a 70%, sendo que a forma pneumônica (quando em geral o bacilo é inalado), tem alto grau de contágio. A taxa de mortalidade quando não tratado é próxima de 100% e reduzida para 50% com antibioticoterapia. Tem alta capacidade de provocar epidemias em

---

<sup>19</sup> A OMS tem registrado anualmente entre 1 a 3 mil ocorrências da peste em humanos. Só no Brasil, “entre 2007 e 2009, o Serviço Nacional de Referência em peste (SRP-CPqAM/Fiocruz) notificou 231 animais-sentinela (99.1% cães) soropositivos, distribuídos nos Estados de Pernambuco, Minas Gerais e Rio Grande do Norte”. (Barros, 2012)

<sup>20</sup> Prófago, em síntese, é como se denomina a estrutura formada pela integração do DNA viral (infectante) e DNA bacteriano (hospedeiro) numa fase em que o hospedeiro não é destruído e se torna imune (ciclo lisogênico), podendo permanecer neste estado por gerações até iniciar o ciclo lítico, em que o processo de replicação viral ocorre.

<sup>21</sup> Biovar é a denominação de uma cepa variante procariótica que se difere fisiológica e/ou bioquimicamente de outras cepas de uma determinada espécie.

<sup>22</sup> Embora o mecanismo de transmissão principal se dê entre roedor e humano através da picada de pulgas infectadas, também pode ocorrer transmissão pela exposição direta (através da mucosa ou escoriações cutâneas) a fluidos contaminados ou inalação de aerossóis contendo o bacilo. (Barros, 2012).

decorrência da formação de aerossóis, o que a torna um candidato a arma biológica. (Barros, 2012).

Em 1938 iniciou-se o uso de antimicrobianos com Sulfonamidas e Estreptomicina, reduzindo a taxa de mortalidade. Não obstante, em 1995 foi isolada a primeira cepa resistente em paciente acometido com a forma bubônica. Atualmente foram introduzidos também a Tetraciclina, Clorafenicol, Gentamicina, Doxiciclina e Ciprofloxacina. Considera-se que esta resistência seja consequência da aquisição do plasmídeo *pIP1202*, que pode ser transmitido para novas cepas de *Y. pestis*. Apesar de estarem em desenvolvimento testes com vacinas promissoras, até o momento este recurso que permitiria a proteção em larga escala em caso de epidemia ou pandemia não existe. (Barros, 2012).

Interessa-nos de maneira singular alguns aspectos relativos à evolução genômica da peste, que aliás, conforme o estudo de Barros, continua evoluindo:

Estudos comparativos dos isolados de *Y. pestis* permitiram concluir que esta espécie sofreu grande fluxo gênico, constatado através da aquisição de regiões similares de outras bactérias e vírus. Acredita-se, que estes achados corroborem com a grande mobilidade das sequências, resultante de rearranjos genômicos [...] A patogenicidade da *Y. pestis*, quando comparada com espécies enteropatogênicas<sup>23</sup>, pode ser explicada pelo novo modelo de transmissão através da picada de pulgas. Acredita-se que seja uma adaptação evolutiva recente que a distinguiu da *Y. pseudotuberculosis* e outras bactérias entéricas. [...] Estudo comparativo do genoma das cepas IP32953 (*Y. pseudotuberculosis*) e CO92 (*Y. pestis*) revelou aspectos do processo evolutivo que transformou um ancestral enteropatogênico em dois patógenos com manifestações clínicas distintas [...] Estudos voltados nas diferenças entre os isolados de *Yersinia* revelaram que os 32 genes cromossômicos da *Y. pestis*, junto com os dois plasmídeos específicos da espécie, representam o material genético adquirido desde sua divergência da *Y. pseudotuberculosis*. Em contrapartida, 149 pseudogenes e 317 genes ausentes foram identificados no seu genoma. Os rearranjos genômicos, mediados pelas sequências de inserção, e a perda de genes, que resultou na eliminação e modificação de vias de expressão gênica, parece ser tão importante quanto à aquisição de genes na evolução da *Y. pestis*. Estes resultados promovem um exemplo de como uma espécie, altamente virulenta, pode surgir de uma espécie pouco virulenta. (Barros, 2012).

Parece razoável concluir que da mesma forma que modificações genômicas evolutivas foram capazes de produzir variantes *Yersinia pestis*, com o trágico grau de devastação testemunhado pela experiência humana no passado, o mesmo processo evolutivo está disponível para outros espécimes que podem rapidamente passar da inocuidade para a alta transmissibilidade, virulência e letalidade. Se no caso em tela

---

<sup>23</sup> Se referem a bactérias que tem capacidade de provocar infecção intestinal em humanos.

essa passagem se deu ao acaso, darwiniano ou não, o fato é que além do ferramental evolutivo nato, o ferramental molecular disponível atualmente em laboratório também permite repetir a façanha de *Yersinia pestis*, seja propositalmente, seja como um acidente, seja como consequência adaptativa de uma modificação de início aparentemente inerte, que pode até não ser percebida pelo pesquisador e/ou se manifestar apenas tardiamente.

O trabalho do professor Luiz Rachid Trabulsi no estudo de *Escherichia coli* é uma referência interessante para entendermos como microrganismos que habitam, por exemplo o corpo humano e com o qual eles se adaptaram e consolidaram uma convivência evolutiva simbiótica, se expostos a outros ambientes (outros órgãos do corpo), podem se revelar patogênicos, com variados graus de morbidade e letalidade<sup>24</sup>. O referido trabalho chama também a atenção para o surgimento de variantes patógenas emergentes dessa bactéria que vem evoluindo rapidamente para se adaptarem às condições ambientais decorrentes do estilo de vida humana moderna (a partir da implementação de alimentos industrializados e carnes malcozidas). (Pesquisa Fapesp, 2002).

Retomando a questão das pulgas como vetores de transmissão, Ricklefs *et al.* (2017) fizeram interessante estudo intitulado “*Avian migration and the distribution of malaria parasites in New World passerine birds*”, no qual buscaram analisar a dispersão de parasitas *haemosporidianos*<sup>25</sup> (*Plasmodium* e *Haemoproteus*) aviários através de aves migratórias no continente americano (de regiões geográfica e ecologicamente bastante afastadas) e determinar as conexões entre faunas distantes, em especial porque as aves são capazes de reter infecções parasitárias durante o ciclo anual de vida e as vezes até por anos. (Moon, 2017). Esse tipo de estudo é importante do ponto de vista epidemiológico pois ajuda a conhecer e entender de que maneira parasitas transmissores de doenças, inclusive para a espécie humana,

---

<sup>24</sup> “Há linhagens [de *Escherichia coli*] que vivem em simbiose no intestino dos seres vivos, onde são inclusive sintetizadoras das vitaminas K e B. Contudo, quando saem desse hábitat natural e atingem outros órgãos, podem causar sérios danos, entre eles infecção urinária, meningite infantil e até infecção generalizada (septicemia)”. (Pesquisa Fapesp, 2002). *Streptococcus pneumoniae* é outro exemplo de microrganismo que coabita o microbioma humano (as vias aéreas superiores) e embora não simbiótico, é inócuo. Contudo em determinadas situações assume configuração patógena, causando agravos como pneumonia e meningite, entre outros. (Langelier, 2018).

<sup>25</sup> “Parasitas hemospordianos aviários (filo *Apicomplexa*: ordem *Haemosporida*: *Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon*), [...] são parasitas transmitidos pelo sangue entre seus hospedeiros vertebrados por insetos dípteros que se alimentam de sangue”. (Ricklefs *et al.*, 2017; Valkiunas, 2005).



transitam distâncias continentais e revela a fragilidade das barreiras sanitárias aeroportuárias em casos específicos, sob determinadas circunstâncias, caso a considerar por exemplo para *Yersinia* e suas variantes que discutimos anteriormente, bem como um eventual patógeno *X* que iremos tratar mais adiante. O estudo revelou que:

Todas as amostras foram vasculhadas à procura de DNA de parasitas da malária por meio da tecnologia de reação em cadeia da polimerase (PCR). Dentre as 24 mil amostras de sangue pesquisadas, foram identificadas cerca de 4,7 mil com infecções, representando 79 parasitas da malária pertencentes às linhagens de malária aviária do gênero *Plasmodium spp.* (42 linhagens em 1.982 indivíduos hospedeiros) e também do parasita *Haemoproteus spp.* (37 linhagens em 2.022 indivíduos hospedeiros), um gênero de protozoários que parasita aves. [...] Entre os patógenos que infectam humanos, as aves migratórias foram responsáveis, por exemplo, pela rápida expansão pela América do Norte de uma doença emergente como a Febre do Oeste do Nilo, originária da África. (Moon, 2017).

Se em algum lugar o chamado “efeito borboleta” faz sentido, este parece ser um deles:

Outro exemplo é o vírus da gripe, que é endêmico e inofensivo nas aves aquáticas, em sua grande maioria migratórias (patos, gansos, marrecos e cisnes). São elas as responsáveis pela disseminação das novas linhagens do vírus influenza pelo planeta. (Moon, 2017).

Os migrantes de longa distância conectam comunidades de parasitas *haemosporidianos* aviários em áreas de reprodução e invernada com avifaunas diferentes e diferentes comunidades de vetores. O grau de compartilhamento da linhagem de parasitas entre migrantes e residentes em áreas de reprodução e invernada parece refletir, em grande parte, a semelhança taxonômica dos migrantes com as espécies residentes em ambas as áreas. (Ricklefs *et al.*, 2017, p. 1113, tradução nossa).

Nos territórios euro-africanos, estudo semelhante foi realizado com “259 linhagens de parasitas em aves distribuídas entre a Europa e a África. Descobriu-se que 31 linhagens que infectam aves migratórias podem ser transmitidas a aves residentes locais”. (Moon, 2017).

Como vimos, ao mesmo tempo em que microrganismos como vírus e bactérias estão em permanente processo de evolução (compreendida como adaptação frente aos desafios do meio ambiente com vistas à sobrevivência), algumas espécies transitam por territórios ecologicamente diferentes e geologicamente muito distantes, ampliando os próprios desafios adaptativos na mesma proporção que ampliam suas chances de sobrevivência. Vale notar, contudo, que os desafios capazes de produzir estes tipos de mutações e soluções não estão restritos apenas aos ambientes naturais e nem tampouco à sua origem. A interferência da ação

humana sobre o meio ambiente vem forçando esses microrganismos a se adaptarem com sucesso a novos desafios, criando novas condições evolutivas que poderíamos designar de artificiais.

Um desse desafios está relacionado ao surgimento de superbactérias, com novas gerações cada vez mais resistentes, resultantes do uso e do descarte exagerado, desordenado e descontrolado de antimicrobianos, tanto através do consumo humano como da atividade pecuária. Mas como essas moléculas chegam ao meio ambiente? Por três vias: as fezes e urina de pessoas e animais que as consumiram; o descarte não seletivo das sobras dos medicamentos não consumidos e a atividade pecuária. As moléculas que compõe tais medicamentos possuem uma característica quimicamente interessante que é não ser em grande parte degradadas, tanto no trato digestório de mamíferos e aves como no ambiente, passando inalterada pelos sistemas de tratamento de esgoto<sup>26</sup> das cidades e pelos sistemas de tratamento de água potável. Na atividade pecuária, os resíduos antimicrobianos seguem duas vias: a carne e derivados destinados ao consumo - que contém resíduos antimicrobianos decorrentes do uso preventivo rotineiro e em larga escala no processo de criação, principalmente de aves, gado e peixes que recebem o medicamento na própria ração - e o descarte dos resíduos/dejetos orgânicos durante todo o processo de criação e também no abate. Significa dizer que seres humanos consomem antimicrobianos não apenas por necessidade clínica, mas também quando consomem carne e derivados e quando bebem água. Não por acaso, as primeiras bactérias resistentes à penicilina (betalactâmicos) foram identificadas já na década de 1960. (Cerdeira *et al.*, 2016, 2017; Fachin, 2016; Moura *et al.*, 2017; Nascimento *et al.*, 2017; Turano *et al.*, 2016)

Apenas a título ilustrativo, na Europa, estima-se que o volume de antimicrobianos utilizado anualmente na saúde humana seja de 5 mil toneladas, já na produção animal esse volume salta para impressionantes mais de 50 mil toneladas. A partir dessa estimativa europeia, calcula-se que o consumo mundial, incluindo grandes produtores como o Brasil e EUA, ultrapasse 200 mil toneladas. (Fachin,

---

<sup>26</sup> Relatório da ONU Meio Ambiente de 2017 reforça este entendimento: “ao serem consumidos, até 80% dos antibióticos são excretados sem ser metabolizados, junto com bactérias resistentes. Apenas no século XXI, o consumo humano desses remédios cresceu 36%. Até 2030, o uso de antibióticos na pecuária deverá aumentar em 67% [...]. Além disso, até 75% dos antibióticos utilizados em aquicultura se disseminam no ambiente ao redor das criações de seres aquáticos”. (ONU Meio Ambiente, 2017; UN Environment, 2017b).

2016). Um dos grandes desafios é saber como o meio ambiente, incluindo as aves migratórias e seus hospedeiros tradicionais reagirão ao longo das próximas décadas diante dessa sobrecarga de selecionadores de resistência. Alguns estudos sugerem que a presença de cassetes CRISPR-Cas em algumas bactérias pode contribuir para a resistência a antimicrobianos. (Weinberger e Gilmore, 2012). Se somarmos nessa equação a imensa variedade de resíduos químicos e orgânicos (urbanos e industriais) que a espécie humana despeja no meio ambiente, incluindo-se os nanomateriais<sup>27</sup> - cujas características físico-químicas próprias lhes permite ultrapassar as membranas celulares e interagir no seu interior, inclusive no nível cromossômico -, é razoável supor que a seleção natural há muito vem enfrentando desafios inimagináveis diante de um ambiente progressivamente mais inapto para a maioria das espécies, inclusive a nossa, ao passo que outras poucas parecem ir-se qualificando para a próxima era, que talvez não seja marcada por catástrofes geológicas ou climáticas, mas de outra ordem nada natural. Dito isto, iremos retomar algumas questões ligadas ao meio ambiente quando formos discutir epigenética.

---

<sup>27</sup> A definição de nanomateriais não está plenamente convencionalizada. Em linhas gerais, nanomateriais são partículas naturais ou sintéticas cujas propriedades físico-químicas únicas, tais como tamanho extremamente reduzido, da ordem de nanômetros (um nanômetro correspondente a  $10^{-9}$  metros) e área superficial ou funcionalização, lhes auferem características mecânicas, óticas, elétricas e magnéticas de grande interesse para aplicações industriais e biomédicas. Comparativamente, uma molécula de nanotubo de carbono por exemplo, tem 1 nm, mesmo tamanho que uma molécula de glicose, a metade do diâmetro de uma hélice de DNA, cinco vezes menor que uma hemoglobina e de 100 a 120 vezes menor que o vírus HIV. Além dos nanotubos de carbono, outros NMs como dióxido de titânio e óxido de zinco são largamente utilizados atualmente pela indústria em um amplo espectro de produtos, desde pele e ossos artificiais a protetores solares, shampoos, cosméticos, componentes eletrônicos, produtos de limpeza, roupas, embalagens, tintas, sistemas de purificação de ar, etc. Ainda são poucos os estudos acerca dos efeitos biológicos nocivos dos vários tipos de nanomateriais, mormente sobre a saúde humana, no entanto, alguns deles indicam que, em razão do tamanho reduzido, tais partículas conseguem transpor a membrana celular e interagir no nível citoplasmático e cromossômico e, a depender das especificidades, concentração de cada tipo de material e tipo de tecido biológico envolvido, provocar “efeitos genotóxicos mediados por estresse oxidativo, através da sua interação com constituintes celulares, incluindo as mitocôndrias e oxidases NADPH ligadas à membrana celular ou através da depleção de antioxidantes, (e.g., glutathione). [...] Para além das lesões oxidativas no DNA, também os efeitos genotóxicos diretos dos NMs podem contribuir de forma determinante para gerar instabilidade genética que, por sua vez, pode contribuir para o desenvolvimento de processos cancerígenos [...] Os NMs que não consigam transpor a membrana nuclear poderão, ainda assim, ter acesso ao DNA e proteínas nucleares no decurso do processo mitótico, podendo originar fenômenos de aneuploidia (vide Tabela 11). Este tipo de acontecimento foi já descrito para os NMs de dióxido de titânio e sílica que penetram no núcleo e causam a formação de agregados de proteínas intranucleares, levando à inibição da replicação, transcrição e proliferação celular [Louro (2013) apud Singh *et al.* (2009)]. Estudos mais recentes sugerem que o dióxido de titânio é capaz de se inserir também nas bases de DNA, ligando-se aos nucleotídeos e alterando a estrutura secundária do DNA [Louro (2013) apud Li *et al.* (2010)].” Além dos efeitos no nível celular há relatos de efeitos sobre vários sistemas como o respiratório, circulatório e linfático, bem como de acumulação em vários tecidos como baço, rins, fígado, pulmões e cérebro. (Louro, 2013).

Relatório da ONU Meio Ambiente de 2017 estima que “700 mil pessoas morrem todos os anos de infecções por bactérias muito fortes<sup>28</sup>, que não são debeladas com os remédios atualmente disponíveis”. (ONU Meio Ambiente, 2017; UN Environment, 2017a; b). A persistir a lógica de consumo atual, até 2050 a resistência bacteriana será de tal ordem que nenhuma classe de antimicrobianos será eficiente<sup>29</sup>. Apenas para se ter uma ideia, a tuberculose, umas das chamadas doenças reemergentes, que até bem pouco vinha sendo debelada com antimicrobianos de primeira geração, reapareceu recentemente como bactéria multirresistente:

“O fato é que, devido à resistência cruzada<sup>30</sup>, antimicrobianos tradicionais e recomendados para o uso na produção animal, indiretamente levam à seleção de genes de resistência aos antimicrobianos criticamente importantes para a saúde humana. Um exemplo é a enrofloxacin, de uso expressivo na produção animal, inclusive para animais de companhia, que, ao ser quebrada pelo fígado do animal, libera como metabólito a

---

<sup>28</sup> A ONU publicou em 2017, lista de bactérias resistentes a antimicrobianos. Dentre os critérios utilizados para escolha dos agentes patogênicos estão: letalidade; virulência; mecanismo de contágio entre animais, de animais para seres humanos e entre seres humanos; disponibilidade de prevenção; disponibilidade de tratamento e pesquisas para desenvolvimento de novos antimicrobianos. Foram considerados de prioridade crítica os seguintes patógenos: *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacteriaceae*, todas resistentes a carbapenema, e a terceira produtora de ESBL [Extended-Spectrum Betalactamase]. Os dois primeiros são comuns em infecções hospitalares. O terceiro tem em sua família a *Escherichia coli*, que já citamos anteriormente por participar da microbiota intestinal de seres humanos e animais. Entre os patógenos de prioridade alta, estão: *Enterococcus faecium*, resistente à vancomicina, é um habitual comensal do trato intestinal humano e normalmente inócuo; *Staphylococcus aureus*, resistente à metilina, com sensibilidade intermediária e resistência à vancomicina, habita frequentemente a pele e fossas nasais de pessoas saudáveis; *Helicobacter pylori*, resistente à claritromicina, é o único organismo vivo conhecido capaz de colonizar o ambiente altamente ácido do ambiente gástrico, local de sua preferência; *Campylobacter spp.*, resistente às fluoroquinolonas; *Salmonellae*, resistentes às fluoroquinolonas, seu principal meio de transmissão é de origem aviária; *Neisseria gonorrhoeae*, resistente a cefalosporina e às fluoroquinolonas, milenar conhecida do ser humano, habita o aparelho respiratório superior e é a causadora da gonorreia. (OPAS/OMS, 2017b). Ou seja, pode-se dizer que são todas antigas conhecidas do ser humano que estão aprendendo a sobreviver em um ambiente que oportuniza e estimula a seleção evolutiva das variantes mais bem adaptadas aos novos desafios e, com isso vão se tornando cada vez mais virulentas e letais.

<sup>29</sup> “Tanto bactérias patogênicas quanto as oportunistas podem se tornar superbactérias. [...] Bactérias decompositoras, como *Acinetobacter baumannii*, tidas como não patogênicas, mas oportunistas, e que estão em locais como pias, pisos e entre outros, têm estado entre as principais causas de infecções e mortes em hospitais. Pelo fato destas bactérias decomporem matéria orgânica, incorporam DNA (genes) de outras bactérias, tornam-se multirresistentes”. (Fachin, 2016).

<sup>30</sup> “A partir da década de 90, pesquisadores europeus descobriram que o uso de antimicrobianos na produção animal seleciona superbactérias, especialmente as *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina (MRSA), e a resistência de *Enterococcus* à vancomicina, antimicrobiano utilizado em hospitais no tratamento de infecções multirresistentes. Essa descoberta explicou o aumento no número de mortes humanas, especialmente em pacientes internados, devido à disseminação dos genes e a incapacidade de cura pelos antimicrobianos tradicionais utilizados na saúde humana. Teve-se, nesse momento, a descoberta da existência da resistência cruzada. Ou seja, uma bactéria pode tornar-se resistente a um antimicrobiano sem mesmo ter entrado em contato direto com ele. Isso ocorre por meio de um mecanismo celular denominado bomba de efluxo que libera o antimicrobiano para o meio extracelular da bactéria”. (Fachin, 2016).

ciprofloxacina, um antimicrobiano muito utilizado na saúde humana, especialmente em infecções graves”. (Fachin, 2016).

A descoberta o gene *mcr-1*, *primeiramente* na China e em países da Europa, da Ásia e da África e mais tarde também no Brasil é uma mostra singular do problema. O gene confere ao patógeno resistência a Colistina (polimixina E), considerada como último recurso antimicrobiano para tratamento de infecções produzidas por bactérias que não respondem a outras drogas. Em entrevista à revista FAPESP, Nilton Lincopan comenta que:

“[...] a aparição desse gene no Brasil pode contribuir para o surgimento de bactérias totalmente resistentes aos antibióticos, com risco de enfrentarmos uma situação similar ao que foi a era pré-antibiótica, quando doenças comuns, como uma infecção urinária ou um ferimento profundo na pele, levavam facilmente a óbito”. (Freire, 2017).

Acreditava-se que a resistência bacteriana à Colistina fosse um processo de aquisição muito difícil, no entanto o artigo publicado na revista *Lancet Infectious Diseases*, por pesquisadores chineses descrevendo a identificação do gene *mcr-1* evidenciou que, difícil ou não, a aquisição de resistência à Colistina é um fato. (Conceição-Neto *et al.*, 2017; Fachin, 2016). Sobre este gene, alerta o pesquisador:

Ainda mais preocupante [...] foi a descoberta de que o gene é facilmente transferível de uma espécie bacteriana a outra por meio de plasmídeos, fragmentos de DNA extracromossômicos que podem se replicar autonomamente e que podem ser transferidos entre diferentes espécies bacterianas por conjugação – processo de reprodução das bactérias por meio do qual pedaços de DNA passam diretamente de uma para a outra. O fragmento de DNA transferido se recombina com o material genético da bactéria receptora, produzindo novas combinações genéticas que serão transmitidas às células-filhas na próxima divisão celular.

Cepas bacterianas carregando o gene *mcr-1* foram encontradas tanto em animais de produção como em seres humanos, levantando suspeitas sobre a existência de uma cadeia na disseminação da resistência a Colistina que começa a partir do uso do antibiótico na alimentação animal, propagando-se para os animais abatidos, os alimentos derivados e o ambiente.

Diante da ameaça de que muitas infecções poderiam se tornar intratáveis, um alerta mundial foi emitido no início do ano pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC, na sigla em inglês), agência do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos. Segundo Lincopan, papers de pesquisadores de diferentes países reportaram em seguida a identificação do gene *mcr-1* em cepas de bactérias clinicamente importantes, como *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* e *Klebsiella pneumoniae*.

“O aspecto mais assustador sobre o gene é a facilidade com que ele é transferido entre diferentes espécies bacterianas. Consequentemente, algumas bactérias hospitalares têm alinhado este gene junto a outros de resistência a antibióticos, favorecendo que a espécie bacteriana receptora fique resistente a praticamente a totalidade dos medicamentos. Assim, se um

paciente estiver gravemente infectado, por exemplo, por uma *E. coli*, não haverá nada que se possa fazer”, diz o pesquisador. (Freire, 2017).

Fernandes e colegas chamam a atenção para a impressionante capacidade dos plasmídeos do tipo *IncX4*, no qual o *mcr-1* foi encontrado, de disseminar o gene em uma gama tão ampla de bactérias em escala intercontinental:

Uma *Escherichia coli* resistente à colistina foi recuperada de um paciente com uma infecção diabética no pé, no Brasil. A análise do genoma completo revelou que o isolado *E. coli* pertencia à sequência disseminada de MLST tipo *ST101*, abrigando o gene *mcr-1* em um plasmídeo *IncX4*, altamente similar aos plasmídeos *IncX4* contendo *mcr-1* recentemente identificados em *Enterobacteriaceae* de amostras de alimentos, animais e humanos recuperado em diferentes continentes. [...] O que é surpreendente é o fato de que os plasmídeos *IncX4* contendo *mcr-1* obtidos de diferentes espécies bacterianas, pertencentes a diferentes STs, isolados em diferentes contextos clínicos e encontrados em diferentes continentes, são altamente similares nas sequências do esqueleto do plasmídeo. Isto sugere fortemente que os plasmídeos do tipo *IncX4* auto transmissíveis podem representar plasmídeos promíscuos que contribuem para a disseminação intercontinental do gene *mcr-1*. (Fernandes *et al.*, 2016, p. 1, 6–7).

Se o quadro acima não parece bom, comenta Arnildo Korb:

[...] é bom considerar, ainda, que o prazo necessário entre a descoberta ou desenvolvimento de uma molécula de antimicrobiano, testes em cobaias animais e em humanos, bem como liberação e disponibilização em escala comercial, é de no mínimo dez anos, ao passo que as resistências para a maioria dos antimicrobianos têm sido observadas de um a quatro anos após o lançamento em escala comercial<sup>31</sup>. (Fachin, 2016).

Evidentemente esta tríade relação *tempo de Pesquisa & Desenvolvimento x evolução da resistência microbiana x economia de mercado* não é singela e a ela deve ser acrescentado mais um fator: o tempo evolutivo do genótipo humano é imensamente maior que o bacteriano ou viral, cujo ciclo de vida e replicação é de horas (ou menos), gerando um descompasso na luta por sobrevivência, ao menos em tese, visivelmente desvantajoso para nós. Além disso, as novas gerações de patógenos, a persistir o histórico das últimas décadas desde a descoberta da penicilina, ao incorporarem genes de resistência progressivamente mais difíceis de serem vencidos, vão se tornando cada vez mais infectantes, virulentos e letais.

---

<sup>31</sup> “O fenômeno da resistência bacteriana e da limitação no desenvolvimento de novas fórmulas, devido ao esgotamento dos sítios de ação nas bactérias, tem levado essas empresas a abandonar as pesquisas com antimicrobianos e investir no setor de doenças degenerativas, mais lucrativas em virtude do envelhecimento da população mundial e dos menores riscos da inativação desses fármacos por tolerância do organismo”. (Fachin, 2016).

Com efeito, o quadro que já não parece bom, piora. A “criatividade” da natureza parece não ter limites. Para fazer frente aos antimicrobianos e outras condições ambientais inóspitas, como altas temperaturas, carência de nutrientes, modificações do pH, etc., bactérias cujo modo habitual de vida planctônica (comum em seres unicelulares), de nadar livremente no meio, a partir de modificação na sua expressão gênica, abandonam sua motilidade flagelar e assumem modo de vida sésil, passando a formar colônias que se fixam no órgão colonizado, unindo-se umas às outras e formando um biofilme, uma membrana extracelular baseada principalmente em açúcar que lhes confere grande resistência a antimicrobianos, aumento da sua toxicidade e da evolução da infecção a um estágio crônico. (A S Navarro *et al.*, 2011; Matsuyama *et al.*, 2015). A *Pseudomonas aeruginosa*, patógeno oportunista capaz de causar infecções crônicas fatais, comum em infecções hospitalares e considerada um dos três microrganismos de prioridade crítica pela Organização Mundial de Saúde (OPAS/OMS, 2017b), conforme citamos em nota anterior em razão da sua ampla resistência a antimicrobianos, é uma dentre várias bactérias que se utilizam deste recurso para sobreviver diante dos desafios artificiais produzidos pela nossa modernidade e seu estilo de vida.

As demonstrações de capacidade adaptativa ora apontadas, apenas algumas das inúmeras e surpreendentes que as espécies encontram para suplantar os revezes impostos pelo ambiente e garantir a sobrevivências das gerações futuras, se constituem em desafios à compreensão sobre os quais a pesquisa genética está apenas no início e, apesar disso, são desde logo suficientes para evidenciar a complexidade, amplitude e dificuldades a serem superadas.

Com efeito, o desenvolvimento do PGH (vide Apêndice A), que ao menos para uma parcela da sociedade representou por um certo tempo uma promessa de cura para todos os males da humanidade, levou ao desenvolvimento de uma metodologia eficaz para o mapeamento do código genético de qualquer espécie. No entanto, não revelou como o mesmo funciona, de modo que é possível identificar as mudanças evolutivas no genoma de qualquer espécie, mas permanece como um desafio em aberto e não superado a explicação de como tais mudanças funcionam no contexto mais amplo do organismo, das populações e do meio ambiente. Certamente que é um avanço importante e necessário para estudos como os que citamos, mas ainda insuficiente para a compreensão mais ampla da dinâmica da vida e da evolução.

Supomos correto que a ferramenta CRISPR poderá auxiliar sobremaneira a pesquisa básica na superação destes desafios do conhecimento. No entanto, parece necessário uma reflexão mais detida e aprofundada para se saber se a pesquisa aplicada pode avançar e em quais áreas, na atual conjuntura de ausência desses conhecimentos e de outros que iremos abordar adiante.

Por ora não adentraremos nas questões que se delineiam na crítica acima, mesmo porque fazem interface com vários aspectos do mundo atual globalizado que iremos tratar apenas mais adiante, bastando-nos sinalizar a inadequação de, ao discutir questões que envolvem a ética da vida, ou seja, a bioética, em especial a edição gênica, ignorar ou não considerar aspectos técnicos como os que aqui apontamos, bem como fatores relacionados à economia, à geopolítica, ao meio ambiente, à saúde global e à paz mundial. Mesmo porque a ética não deve ser apenas a lupa sob a qual se olham as questões, mas sobretudo o topo da montanha sob o qual se mira o horizonte.

Se, com efeito, a genética como fato é ainda um desafio do conhecimento que apenas começamos a compreender, como construção humana parece estar sujeita não apenas aos riscos, como aponta Lewontin (2001), de transformar a metáfora na própria verdade, mas também, como sinaliza Leite (2006), de usar esta verdade como projeto de poder. A edição gênica, e evidentemente não apenas ela, porquanto ferramenta que pode servir a um bem comum global, mas também potencialmente a serviço de interesses hegemônicos, talvez seja um dos aspectos que mais antagonize com a ideia de responsabilidade global, de prudência e de controle social. Neste sentido, CRISPR é a ferramenta do momento e ao mesmo tempo, e em bom tempo, a oportunidade do debate.

Mais adiante abordaremos algumas questões relativas à sociedade contemporânea globalizada, à regulamentação internacional e investimentos de mercado em CRISPR que ajudam a formar este cenário, no entanto, não poderemos aprofundar este tema, que apesar de sua importância, requer estudos complementares mais amplos e em áreas que não iremos adentrar. Desta forma, nos será suficiente indicar a sua necessidade.

### 2.1.2.3 Diversidade, variabilidade, imprevisibilidade e determinismo genético

Quando aprendi todas as respostas, eles mudaram todas as perguntas. (Zatz, 2012, p. 63).



A base da imensa diversidade de todos os organismos procariontes e eucariontes está contida nos nucleotídeos: DNA nuclear e/ou RNA, além de elementos móveis como por exemplo os microRNAs, plasmídeos e mitocôndrias, cujas funções e atividades específicas, na interação epigenética com o meio ambiente, concorrem não apenas para a formação fenotípica de cada ser vivo, mas também para o seu funcionamento, num processo altamente dinâmico e interativo, mediado por mecanismos de regulação de expressão gênica e mutações. Além de concorrerem favorável ou desfavoravelmente para a formação das características de cada indivíduo e para a sobrevivência, tais elementos compõem o pacote de herança, seja ela permanente ou transitória, que será transmitida para a prole (vide Apêndice B). A complexidade do funcionamento e de interações que este conjunto de elementos genéticos estabelece entre si, endogenamente (enquanto unidade celular e organismo) e com o meio ambiente, representa mais um desafio ao conhecimento, sobretudo para a pesquisa gênica que, como dito anteriormente, apesar do esforço científico empreendido até aqui, muito ainda há por desvelar-se.

As mitocôndrias, ainda que restritas a apenas uma parte dos eucariotos, são um exemplo interessante desta complexidade: apesar de serem organelas compostas por pequenas cadeias nucleotídeas e realizar tarefas aparentemente bastante específicas, o seu funcionamento e/ou eventuais interações erráticas com o DNA nuclear ocasionam uma variabilidade de situações cujos limites de expressão fenotípica podem ou não caracterizar doenças genéticas, que variam de pouca ou nenhuma relevância clínica a gravíssimas e letais. Neste ponto, recomendamos fortemente a leitura do Apêndice B.

A epigenética parece ser um dos fatores chave para a compreensão desses fenômenos. Embora não tenhamos o propósito de adentrar com profundidade nos seus mecanismos, faremos algumas poucas incursões que auxiliam o debate sobre edição gênica e ampliam as perspectivas sobre ameaças e oportunidades. Desde logo, convém observar que se situa aqui, de maneira muito especial, o debate fundamental acerca da barreira entre linhagem somática e germinativa, tradicionalmente considerada intransponível para efeitos de edição gênica. Sob certa perspectiva, pode-se dizer que a epigenética desafia pelo menos três dogmas consagrados da biologia ao mesmo tempo, o que não é pouco (vide Apêndice B).

Se extrapolarmos do microuniverso celular para o organismo como um todo, o que vemos é que a imensa diversidade de espécies na terra é tão

surpreendentemente impressionante que parece querer dizer que a vida sempre encontrará um caminho, por mais difícil e improvável que possa parecer ser. A variabilidade de seres dentro de uma mesma espécie é igualmente inacreditável, cada ser vivo parece ser único e capaz de construir sua própria história, uma existência ímpar, desafiadora, de superação. Do menor e mais simples microrganismo ao maior e mais complexo mamífero, cada um parece ser capaz, desde o primeiro instante de vida, desde a primeira replicação de material genético, da primeira duplicação celular, de utilizar da sua maquinaria genética para se tornar imprevisivelmente único, capaz de superar os imensos desafios da existência, recorrendo de maneira muito particular aos recursos biológicos de que dispõe para interagir com o meio ambiente, numa permanente conspiração dialética pela vida. Isto é divinamente fantástico, independentemente do sentido que se atribua a “divino” e a “fantástico”, afinal, de tudo que vimos até aqui, parece que dependemos mais de crenças do que alguns gostariam ou deveriam, sejam elas em um Deus, um “engenheiro” ou na evolução.

Transladando esta reflexão para nosso interesse mais específico, parece impossível falar em genótipo sem falar em diversidade; parece impossível falar em fenótipo sem falar em variabilidade; parece impossível falar em variabilidade e diversidade sem falar em imprevisibilidade. Talvez essas três palavras: diversidade, variabilidade e imprevisibilidade sejam as que melhor traduzam edição gênica frente aos desafios da vida e do conhecimento atual.

Fazendo um parêntese, o trágico sobre a imensa diversidade existente na natureza, que citamos anteriormente, de 8,7 milhões de espécies, é que: “a mais recente *Lista Vermelha*, feita pela União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais, estima que 19.625 espécies estão classificadas como ameaçadas. Isso de uma amostra total de 59.508, ou [seja] menos de 1% do total agora estimado de espécies”, e mais, “muitas espécies podem desaparecer antes mesmo que saibamos de sua existência, de seu nicho particular ou de sua função em ecossistemas”. (Agência FAPESP, 2011; Mora *et al.*, 2011). Este é um dado insólito e incômodo – já que parte desta lista é resultado de nosso modelo de progresso - que deve ser considerado em termos de impacto sobre os micro e macrobiomas, bem como sobre o ecossistema global e o meio ambiente. Além disso, há implicações nesta equação de extinção de espécies conhecidas e desconhecidas sobre biossegurança e estudos de impacto ambiental envolvendo pesquisas com edição gênica - assuntos

que iremos tratar mais adiante, mas que desde já nos é útil assinalar – que também devem ser considerados.

Essa inimaginável diversidade está em todo lugar e de maneiras que até bem pouco tempo sequer imaginávamos, ou para sermos mais honestos, ainda não conseguimos imaginar. Segundo pesquisadores do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp): “Um único exemplar de cana de açúcar é lar de 23.811 tipos de bactérias e 11.727 grupos diferentes de fungos”. (Freire, 2016; Souza *et al.*, 2016).

Outra expressão impressionante dessa diversidade e pluralidade de vida pode ser vista dentro de nós mesmos. No corpo de um humano adulto jovem, do sexo masculino<sup>32</sup>, com 1,70 m de altura e 70 kg, estima-se que existam aproximadamente 38 trilhões de bactérias e outros microrganismos, aproximadamente a mesma quantidade de células humanas (Sender, Fuchs e Milo, 2016), grande parte deles vivendo e compartilhando tarefas metabólicas e benefícios com seus animais hospedeiros - é a chamada microbiota. Sem essa simbiose construída ao longo de pelo menos 500 milhões de anos de evolução co-adaptativa<sup>33</sup> em diversas funções como imunidade, metabolismo e reprodução, talvez nem eles e nem nós sobrevivêssemos – lembremos das bactérias que coabitam nosso sistema digestório, algumas das quais citamos quando tratamos de antimicrobianos. Estima-se que ao longo de uma geração, uma pessoa do sexo masculino possa abrigar 1 milhão de gerações de bactérias, acumulando diversidade genética e epigenética com efeitos evolutivamente importantes tanto no metagenoma como no fenótipo de ambos (Cho e Blaser, 2012). Se em certo sentido a diversidade parece ser a regra da vida, conviver, compartilhar, coabitar parecem ser uma contingência primária, talvez até um imperativo.

Apesar das diversas ressalvas que abordamos nas páginas anteriores, tanto no que se refere às causas como no que se refere aos mecanismos (em especial a

---

<sup>32</sup> A referência a espécime do sexo masculino por parte de vários autores em estudos de microbiota humana decorre do modelo de referência de estudo adotado, visto que há diferenças importantes em microbiomas de órgãos específicos relacionados ao sexo feminino. (Cho e Blaser, 2012; Sender, Fuchs e Milo, 2016).

<sup>33</sup> A microbiota humana é composta por menos de 10 filos (principalmente 6) dos mais de 50 conhecidos. Para explicar a razão evolutiva de tal restrição de diversidade a tão poucos filos, Cho e Blaser (2012) consideram a possibilidade da existência de uma grande variedade de organismos de contingência e genes de contingência que possam se conformar dentro dos limites permitidos pelo genoma humano, o que talvez possa indicar algum nível de compatibilidade ou afinidade genética.

epigenética), e diga-se, elas modificam substancialmente a perspectiva sobre a qual se olha a questão, ao menos sob o ponto de vista evolucionista, parece ser correto afirmar que a diversidade genotípica, capaz de produzir uma variabilidade incomensurável de fenótipos foi essencial para o sucesso da seleção natural, mas qual o ferramental biológico dessa façanha? Fundamentalmente, mutação (vide Apêndice B), que Futuyma explica da seguinte forma:

A teoria moderna da evolução sustenta que a variação hereditária que motiva esse processo nos sistemas biológicos se origina por algum processo de mutação, na qual uma condição razoavelmente estável de uma característica herdável é de alguma forma transformada numa diferente condição herdável razoavelmente estável. A teoria também sustenta que mudanças nas proporções de diferentes condições são decorrentes de algum processo de classificação entre as variantes, a ponto de algumas variantes sobreviverem e se reproduzirem mais do que outras, provocando uma alteração na representação das variantes diferentes nas gerações subsequentes. (Futuyma, 1992, p. 4).

Cruz (2011, p. 26–27) assim define as mutações:

As mutações podem resultar de uma alteração na sequência dos nucleotídeos, ou de quebras e mudanças de posição dos fragmentos da molécula de DNA. Portanto são mutações as alterações numéricas e estruturais dos cromossomos, que persistem através das autoduplicações, transmitindo-se às células-filhas. Existem também erros que ocorrem no RNA, no momento das transcrições ou das traduções, e afetam somente a própria célula.

No entanto, as mesmas ferramentas que possibilitam a adaptação necessária para fazer frente aos desafios do meio ambiente e garantir a sobrevivência das espécies, são as mesmas que produzem má formações, doenças, mortes e extinção. Com efeito, sob uma perspectiva antropocêntrica que parece dominante, fruto de nossa cultura ocidental, mutação, é ao mesmo tempo nosso maior bem e o pior mal. Zatz, traduz esta ambiguidade de maneira sutil:

[...] descobrimos que tanto quanto existe uma diversidade infinita de espécies do mundo vivo, existe também uma diversidade enorme entre indivíduos no seio da mesma espécie. [...] É essa variedade de aptidões físicas e mentais que confere às populações humanas suas possibilidades de responder aos desafios do ambiente, suas ferramentas para progredir em sociedade, desenvolver culturas ricas, criar e ter comportamentos diferentes. É isso que faz com que a espécie humana tenha modelos de beleza como Gisele Bündchen, atletas e medalhistas olímpicos como os nadadores Ian Thorpe ou Cesar Cielo, músicos da estirpe de Miles Davis e tantos outros. Portanto, todo tipo de homogeneização, destinada a contribuir para a criação de indivíduos iguais ou “normais”, ideais ou perfeitos, só tende a empobrecer a todos nós.

Não há genes ótimos ou “normais”, mas apenas coleções de genes que nos permitem viver e reproduzir com sucesso hoje e, principalmente, que podem ser diferentes dos considerados “normais” de amanhã. (Zatz, 2012, p. 59).

Evidentemente que quando falamos em mutações, não ignoramos as mazelas humanas que dela decorrem. Uma publicação da Sociedade Brasileira de Genética de 2002 estimava que entre 1% e 3% da população sofriam de alguma doença de origem genética (Rutgers, 2002); entre as doenças letais decorrentes de mutações, estima-se que no mundo anualmente 32 milhões de pessoas desenvolvem algum tipo de câncer e 8,8 milhões delas morrem da doença anualmente. São 14 milhões de casos novos todos os anos e em 2030 este número deve subir para 21 milhões de pessoas/ano. (BBC, 2016; OPAS/OMS, 2017a).

Estimativa mais recente divulgada pela Associação da Indústria Farmacêutica de Pesquisa (Brasil), dá conta de que existem hoje mais de 7 mil doenças raras conhecidas, 80% delas de origem genética e para 95% não existe tratamento, sendo que 75% delas se manifestam ainda na infância - citamos algumas no Apêndice B, quando falamos das mitocôndrias. Em todo o mundo, são entre 420 a 560 milhões de pessoas afetadas, algo entre 6% e 8% da população. (BBC Brasil, 2013). Entre as mais conhecidas estão: Anemia Falciforme, Distrofia Muscular de Duchene, Doença de Huntington, Doença de Tay-Sachs, Fenilcetonúria, Fibrose Cística, Hemofilia A, Síndrome de Marfan, Talassemia e a Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA). A ausência de tratamento comumente é justificada como decorrente de dois fatores intimamente relacionados: as dificuldades próprias no campo da pesquisa (a maior parte destas doenças são poligênicas e multifatoriais e o conhecimento genético atual é ainda insuficiente) e o alto custo no desenvolvimento da cura ou tratamento, o que faria delas economicamente inviáveis. Três casos recentes comoveram e marcaram o debate mundial: a morte do físico Stephen Hawking e dos bebês Charlie Gard e Alfie Evans, o primeiro com ELA, o segundo com Síndrome de Miopatia Mitocondrial e o terceiro diagnosticado com uma doença neurodegenerativa severa associada com epilepsia, em estado semivegetativo por mais de um ano. Durante a realização da *International Summit on Human Gene Editing* (Cúpula Internacional sobre Edição de Genes Humano) organizado pela *US National Academies of Sciences and Medicine*, *Royal Society in London* e pela *Chinese Academy of Sciences*, em dezembro de 2015, o depoimento de uma das participantes, mãe de um bebê portador de um distúrbio genético que destruiu o seu corpo com convulsões ao longo de sua vida de seis dias,

gerou uma corrente de emoção que concluiu com a seguinte fala: “*If you have the skills and the knowledge to fix these diseases, then frickin’ do it.*” (“Se você tem as habilidades e o conhecimento para consertar essas doenças, então faça-o.”). (Reardon, 2015, tradução nossa).

Mas afinal, quantos genes precisam estar envolvidos em uma modificação importante? Um único gene pode influenciar a sobrevivência de uma espécie? Matéria publicada na Revista Science intitulada “*Salmon spawn fierce debate over protecting endangered species, thanks to a single gene*” (“Desova de salmão gera debate feroz sobre a proteção de espécies ameaçadas, graças a um único gene”), (Langin, 2018, tradução nossa) aponta alguns dos resultados de pesquisas que indicam que um único locus correspondente ao gene *GREB1* é responsável pelo movimento migratório relacionado justamente à procriação de duas espécies de peixes: o salmão e a truta. Tal modificação teria ocorrido possivelmente uma única vez a partir de um ancestral entre 10 e 15 milhões de anos atrás. (Hess *et al.*, 2016; Prince *et al.*, 2017; Thompson *et al.*, 2018). Citamos no começo também o caso da pesquisa de mudança de um único gene, chamado *yellow*, de um macho de *Drosophila melanogaster*, que se solto na natureza, dependendo do tipo de modificação introduzida com impulso genético, poderia levar a extinção de toda uma população daquela espécie de inseto. Por outro lado, certas características complexas como a inteligência, ansiedade e algumas doenças relacionadas ao cérebro, como Alzheimer, parecem estar relacionadas de alguma maneira a quase mil genes.

Ezra Zubrow, antropólogo da *State University of New York*, em Buffalo, citado por Leakey, queria saber que tipo de vantagem competitiva poderia ser necessária para uma população superior substituir uma inferior rapidamente. A partir de modelos computacionais, simulações indicaram que “uma vantagem de 2 por cento pode levar à eliminação da segunda população em um milênio”. (Leakey, 1997, p. 99).

Por outro lado, assim como não parece razoável desconsiderar a importância capital dos genes e das mutações na base da imensa diversidade experimentada pelas espécies, incluindo a humana, também não parece razoável desconsiderar que há algo além dos genes a interferir na variabilidade de fenótipos, capaz de uma imprevisibilidade surpreendente, o que torna no mínimo temerário argumentos que de alguma maneira persistem na metáfora do organismo como uma máquina, cujo resultado possa ser calculado, medido, enfim, determinado. Zatz faz considerações interessantes a este respeito:

O estudo do genoma também tem permitido descobrir que, para algumas doenças, pessoas portadoras da mesma mutação podem ter um quadro clínico discordante, variando desde uma forma grave até ausência de sintomas. Isso demonstra que muitas mutações ditas “patogênicas” podem não ser determinantes por si só de uma patologia e que outros fatores interferem na expressão dos genes. A identificação desses fatores que protegem algumas pessoas dos efeitos deletérios de determinado gene abre um leque enorme para futuros tratamentos. E é mais uma evidência de que não há determinismo genético. (Zatz, 2012, p. 61).

Exemplo clássico da imensa dificuldade de se diferenciar uma mutação evolutiva que favoreça a sobrevivência, de uma que conduza a patologias severas é o caso do gene *Hmox1*, que expressa a heme oxigenase-1 (HO-1) em células hematopoiéticas, relacionada a Anemia Falciforme e que ao mesmo tempo confere tolerância ao hospedeiro para formas graves de malária, provocada pelo *Plasmodium*, um protozoário unicelular parasita, que infecta os eritrócitos. (Ferreira *et al.*, 2011). Vamos falar mais adiante sobre código genético perfeito, de modo que nos é suficiente neste ponto evidenciar a fluidez da questão sobre qual perspectiva atribuir valor a essa mutação no gene *Hmox1*: a da imunidade ou a da doença?

Feitas estas considerações mais gerais, vamos então falar um pouco mais detidamente sobre variabilidade, diversidade e imprevisibilidade. Sigamos pois, por especificar o entendimento que aqui adotaremos acerca destes conceitos: diversidade diz respeito ao genótipo, que para cada ser vivo, para cada pessoa, é diferente e único; variabilidade diz respeito ao fenótipo que se expressa a partir do genótipo de maneira a preservar uma uniformidade enquanto espécie, mas ao mesmo tempo uma identidade particular para cada indivíduo, fazendo de seu ser e de sua existência um fenômeno único no mundo e, imprevisibilidade é essa maneira única, particular de combinação de variabilidade e diversidade capaz de fazer frente e suplantar os desafios o ambiente e eventualmente, tornar possível a sobrevivência e a evolução.

Poder-se-ia argumentar que a imprevisibilidade não passa, em maior ou menor grau, da deficiência do atual estágio do conhecimento humano, que ainda não é suficiente para lidar com todas as variáveis que concorrem para a formação do genótipo, todas as injunções endógenas e influências ambientais que concorrem para a expressão do fenótipo e convergem para o fenômeno da vida. Esta hipótese, que em síntese retoma duas ideias ubíquas - a do organismo como uma máquina e a do determinismo genético -, ainda que não se possa descartá-la de pronto, salientamos que não a consideramos sustentável - pelas razões que já expusemos em relação à primeira e pelas que iremos expor mais adiante em relação à segunda-, muito embora

cotidianamente tal visão subsista e perpasse em boa medida a bancada do laboratório.

Mas afinal, o que é uma mutação? Como ela ocorre? Em que momento? Correntemente as mutações são modificações no genótipo, que podem ser biologicamente favoráveis ou desfavoráveis à sobrevivência e à reprodução e podem produzir variabilidades no fenótipo, evolutivamente favoráveis ou desfavoráveis à adaptação ao meio ambiente. Ao mesmo tempo elas podem ser inócuas, seja porque não expressam características em tecido-específico ou porque não atingem limiares de expressão significantes (caso típico das mutações mitocondriais, vide Apêndice B). Da mesma forma, podem repercutir na descendência, como herança ou simplesmente sucumbir com a morte do indivíduo. Necessário frisar que estes conceitos que aqui tratamos não se submetem aos critérios ontológicos de valor ou de moralidade. O que não quer dizer que as ações humanas das quais decorrem mutações, sejam elas fruto de edição gênica ou de agressões ao meio ambiente, não possam ser submetidas ao crivo da ética, que é justamente o que estamos a discutir neste trabalho.

Por definição, mutação é uma modificação no código genético original, seja ele no DNA nuclear, mitocondrial, ou mesmo no RNA e seus correlatos, como os micro RNAs. Estas modificações podem ocorrer na sequência de nucleotídeos ou na estrutura do cromossomo de uma célula, não na sua expressão<sup>34</sup>, ainda que objetivamente sejam as consequências das expressões gênicas no nível do fenótipo que mais acentuadamente interessam. Não raras vezes as mutações são associadas a erros, dissonâncias em relação ao modelo original antes da duplicação ou replicação celular (vide Apêndice B). No entanto, pode-se entender que elas são também um recurso da célula, do organismo para encontrar uma maneira melhor de responder aos desafios do ambiente e de sobreviver.

Dito de outra forma, mutação significa também expectativa de evolução e por isso poderia ser traduzida como um não erro. Todas as células de um organismo estão sujeitas a mutações, sejam elas em linhagem somática ou germinativa e podem ocorrer em qualquer fase do ciclo celular. Comumente as mutações no DNA, em células somáticas, ocorrem dentro do ciclo celular normal, durante a replicação, que

---

<sup>34</sup> Ainda que possa parecer um excesso, vale lembrar que esta visão de mutação como causa e a expressão fenotípica como consequência é uma visão eminentemente evolucionista que não considera a epigenética evolutiva, em especial os aspectos relacionados a herança transgeracional.



precede uma divisão mitótica. Nas células germinativas, tanto podem ocorrer mutações no DNA durante a fase de replicação, antes da meiose ou mesmo na fase de conjugação. Mesmo após o material genético estar completamente duplicado, podem ocorrer mutações posteriores no DNA, muitas delas resultantes de interações com o ambiente externo. (Martins, 2016). Já no caso do DNA mitocondrial (vide Apêndice B), ele não apenas existe em quantidade dentro das células, como sofre 10 vezes mais mutações que o DNA nuclear em decorrência da ausência de mecanismos de correção. No caso do RNA e seus derivados, em geral são mutações transitórias que podem gerar erros de transcrição na síntese de proteínas ou no controle da expressão gênica das mesmas.

No entanto, como já dito, não apenas a chamada maquinaria celular pode produzir mutações, mas o meio ambiente também pode dar causa às mesmas. São vastos os estudos indicativos de substâncias mutagênicas e teratogênicas, mormente aquelas relacionadas à toxicidade, radiação ionizante e ultravioleta (citamos anteriormente também os nanomateriais), entre outras, que resultam na ocorrência de vários tipos de alterações, tanto gênicas como estruturais. Tais efeitos decorrentes da exposição ao meio ambiente adentram também no campo da epigenética, que discutimos no Apêndice B.

Com efeito, poderíamos dizer que as mutações por si só podem não ser relevantes, vez que é a expressão no fenótipo que determinará sua importância. Disto decorre o fato de poderem existir por exemplo, num determinado organismo, inúmeras mutações em *locus* que não estejam relacionadas ao tecido/específico onde elas ocorram, de modo que as mesmas nunca serão expressas, e por isso mesmo inócuas, ou mesmo, que estejam abaixo do limiar de expressão - caso por exemplo das mutações do DNA mitocondrial que tratamos no Apêndice B. Além disso, a grande maioria das características expressas no fenótipo são poligênicas, ou seja, resultam da combinação de vários genes e da interação destes com o meio ambiente. Ao mesmo tempo, cada gene pode ter participação em mais de uma expressão fenotípica. Da mesma forma ocorre com muitas das patologias de origem genética.

A explicitação destas diferenças e peculiaridades do conjunto do material genético susceptível às mutações e a expressões fenotípicas diferenciais ou indesejadas ajuda a discutir sobre qual material genético, quais processos e qual expressão gênica se está tratando quando se fala em edição genética.

Evidentemente, há outros aspectos que podem ser trazidos à discussão para que tenhamos uma compreensão mais ampla deste assunto. Então, vamos em frente!

Poderíamos resumidamente, classificar as mutações em dois grupos: gênicas e cromossômicas. As mutações gênicas decorrem de alterações na sequência de nucleotídeos por substituição, inserção ou deleção de bases (vide Apêndice B, Tabela 10). Já as cromossômicas podem ser numéricas ou estruturais, podendo afetar uma determinada região do cromossomo, um cromossomo inteiro ou todo o conjunto (vide Apêndice B, Tabela 11). Convém lembrar que não se incluem aqui, em princípio, as mudanças estruturais da cromatina, que tratamos no Apêndice B, quando falamos de epigenética.

Vale ressaltar que em geral as pesquisas com edição gênica tratam de modificações na sequência de nucleotídeos, não em modificações estruturais ou numéricas. Não obstante, edições no nível genômico podem produzir, ainda que de maneira indesejada, mutações no nível estrutural. Nos referimos a alguns destes conceitos ao tratar da técnica CRISPR e, de passagem, também outras técnicas de edição, motivo pelo qual recomendamos revisitar esse tópico sempre que necessário.

Dito isto, cabe considerar uma questão de fundo que perpassa o imaginário coletivo, senão de biólogos e geneticistas, ao menos do resto de nós e que sob certo ponto de vista, representa o antônimo de diversidade, variabilidade e imprevisibilidade: a perfeição, que, para fins de nossa discussão, poderíamos traduzir como uma forma mais sutil, talvez até romântica, do conceito de determinismo genético. Esta perfeição ambiciona um código genético perfeito, capaz de dotar o fenótipo de todas as potencialidades possíveis e imune a todas as patologias, talvez até da senescência, quiçá da própria finitude. (Corrêa, 2002; Fioravanti e Pivetta, 2001; Watson, 2005). Este não é um sonho novo, herdamos por várias vias: da filosofia clássica de Sócrates (469/470 a.C.-399 a.C), Platão (428/427 a.C.-348/347 a.C.) e Aristóteles (384 a.C.-322 a.C.) a Kant (1724-1804), só pra citar apenas algumas das bases sobre as quais se edificaram e se conformam esta nossa forma de pensar, de ver o mundo e se postar diante do futuro. Traduzida principalmente na estética, na lógica, na matemática, na geometria, na física, na cosmologia, na ética e na epistemologia, a ideia da perfeição via de regra está associada a outra ideia: a de

conhecer para controlar e dominar a natureza<sup>35</sup> através das ciências<sup>36</sup> (Kesselring, 2000), ao que Jonas (2006, p. 235) vai chamar de “programa baconiano”.

Herdamos também da Religião, expressa sobretudo na imagem e semelhança de Deus, mas também em outros modelos teológicos e míticos de virtudes e qualidades como a bondade, o amor ao próximo e a justiça. Mas como cultura é herança histórica - ainda que possa admitir rupturas pontuais que fazem parte do processo revolucionário, não se admite desconexão completa de causalidade entre passado e presente - replicamos este ideal de perfeição nas ciências clássicas e na idade moderna. Na contemporaneidade, ao incorporarmos novos conhecimentos em todas as áreas das ciências, inclusive da genética, os conformamos à mesma estrutura de pensamento, até chegarmos como sociedade a uma obsessão quase descontrolada pelo belo, pelo perfeito, pelo pleno e absoluto em forma e conteúdo, seja isto materializado como eugenia, medicina, genética, neurociência, inteligência artificial, pós-humanismo ou outras tantas formas de expressão humana. Mas o que disso nos interessa em nossa discussão é que este sonho de perfeição, ainda que se alegue superado por muitos, persiste e é partilhado amplamente pela sociedade em geral sob variadas formas, e uma delas é o seu pressuposto, o determinismo genético que está implícito do código genético perfeito. Afinal, parece que não faria muito sentido perseguir a perfeição se ela não pudesse ser alcançada, e para alcançá-la seriam necessárias ao menos três coisas: um objetivo (a perfeição), uma maneira de alcançá-lo (a genética) e entre elas aquilo que as conecta, uma relação de causa e efeito (o determinismo).

---

<sup>35</sup> A este respeito, Morin faz interessante reflexão em “Ciência com consciência”: “Podemos dizer, de algum modo, que há um pentágono de racionalidade no qual a ordem é um elemento-chave. O pentágono de racionalidade é constituído por cinco noções: ordem, determinismo, objetividade, causalidade e, finalmente, controle. O conhecimento das leis da natureza permite anunciar e controlar os fenômenos: com isso, encontramos a ideia fundamental de uma ciência cuja missão é tornar o homem senhor e dono da natureza, pela mente e pela ação”. (Morin, 2010, p. 208).

<sup>36</sup> Laplace (1749-1827), em “*Essai philosophique sur les probabilités*”, assim expressa essa ideia: “*Une intelligence qui, pour un instant donné, connaîtrait toutes les forces dont la nature est animée, et la situation respective des êtres qui la composent, si d’ailleurs elle était assez vaste pour soumettre ces données à l’analyse, embrasserait dans la même formule les mouvements des plus grands corps de l’univers et ceux du plus léger atome: rien ne serait incertain pour elle, et l’avenir comme le passé, serait présent à ses yeux*” (“Se uma inteligência conhecesse, para um instante dado, todas as forças com as quais a natureza é animada, e a situação respectiva dos seres que a compõe, e se, além disso, ela fosse bastante abrangente para submeter esses dados à análise e compreender, na mesma fórmula, os movimentos dos corpos maiores do universo, assim como o átomo mais leve: para uma tal inteligência nada seria incerto e o futuro, assim como o passado, estariam diante de seus olhos”). (Kesselring, 2000, p. 9 apud Pierre-Simon, 1840, p. 4).

Se por um lado, ao menos do ponto de vista da sociedade em geral, o Projeto Genoma Humano não logrou sequer chegar perto deste objetivo, a engenharia genética não raras vezes, parece ter sido utilizada como um novo caminho de alento a este propósito. Bem verdade que alimentado muito mais pela mídia e pelo mercado que a patrocina, muito embora talvez devêssemos admitir, não são poucas as pesquisas que de alguma maneira perseguem este desejo da perfeição. (Corrêa, 2002). Potter (2016), faz interessante debate crítico a este respeito ao discutir o papel da desordem. Este talvez seja um daqueles paradoxos da biologia: de um lado a Teoria da Evolução afirmando que as mutações ao acaso, sujeitas a imprevisibilidade das circunstâncias se submete a aleatoriedade da seleção natural que dita a sobrevivência, sem nenhum compromisso com o futuro; de outro, a genética afirmando que a mecânica da maquinaria bioquímica, estruturada em sistemas moleculares interdependentes define a vida e a dinâmica das interações internas e externas e como ela será, num persistente reviver Laplaceano.

Se é verdade que sem as mutações, nos moldes Darwinianos ou pós-Darwinianos<sup>37</sup> – inclusive incorporando a ampliação da janela explicativa de Gould, de que tratamos ao debater evolução –, não há evolução e sem evolução, não há sobrevivência, por outro, sem a previsibilidade da genética, ao menos sob uma certa perspectiva, parece não haver como entender a vida e explicar como ela funciona. Neste sentido, se há previsibilidade, há padrão, segue um modelo e, portanto, é determinista e sem isso, não se concebe a viabilidade de editar genes. Vários estudos tem de alguma forma indicado o problema, como Cho e Blaser (2012, p. 11), ao afirmar que: “*A multidimensionalidade dos fenótipos humano e microbiano e as interações dinâmicas não lineares desafiam soluções determinísticas*”, mas em geral não apontam uma ruptura com a teoria hegemônica vigente, deixando transparecer mais um esforço de superar as lacunas que vão se abrindo na mesma, sem no entanto desafiá-la. Talvez se alegue que isto não passa de um jogo de palavras, um mero exercício de lógica, por isso vamos mais adiante voltar a este tema quando formos discutir CRISPR e biossegurança; por ora é suficiente demarcar a antinomia.

---

<sup>37</sup> Não estamos considerando aqui a epigenética cujo impacto na lógica determinista é ainda um caminho em construção. Também não iremos olhar a questão sob a ótica Criacionista ou do Design Inteligente, que imprimiriam outras perspectivas. Para o propósito de nossa análise, nos será suficiente trabalhar sob a perspectiva predominante, a evolucionista, embora reconheçamos que as demais poderiam nos levar a caminhos no mínimo interessantes, e certamente muito diferentes.

Notadamente, a perspectiva determinista em geral tem sido a pedra angular no estudo das patologias, pelas razões que expusemos acima: só é possível tratar uma patologia se for igualmente possível conhecer seus mecanismos e a sua dinâmica. Sem esse determinismo, em que causas e consequências possam compor um nexos linear, ao menos no atual estágio de desenvolvimento do conhecimento, não há diagnóstico, nem tratamento, quiçá cura. Essa mesma lógica vale também para o estudo dos genes e para as expressões no nível do fenótipo, sejam elas relacionadas a patologias ou a outras expressões de interesse. As implicações disto sob o ponto de vista da liberdade, da autonomia da vontade e de todo o arcabouço conceitual, tanto para a filosofia como para as ciências do comportamento em geral são amplas e tem sido objeto de importantes e interessantes debates. (Rutgers, 2002; Sanches, 2007; Waizbort, 2001; Watson, 2005). Trataremos mais adiante de alguns aspectos desta discussão, no entanto neste momento é importante destacar que o modelo de ciência que fazemos hoje parece ter mais determinismo do que talvez devêssemos ou precisássemos. De outro lado, parecem haver dúvidas razoáveis sobre se a realidade da vida, dos genes, dos organismos mais simples aos mais complexos se conformam plenamente a este modelo.

Dito isto, poderíamos então sintetizar a questão sob três perspectivas: determinismo como fato, como fundamento e como propósito. Trazendo para nosso campo de discussão, num nível mais pragmático do debate, Leite apresenta interessante reflexão este respeito:

A biologia molecular e a genômica, em particular, representam o ápice da extensão ao domínio da biologia da estratégia materialista e da valorização moderna do controle de que fala Lacey (cf. 1998; 1999) e que antes fora tão bem-sucedida nos campos da física e da química, por exemplo. Diferentemente destas, porém, não se pode dizer que a estratégia materialista em genômica tenha engendrado propriamente teorias e leis cuja aceitação e legitimação pudessem alimentar pretensões de universalidade, pois essa é mais a expectativa dos biólogos moleculares em relação a essa nova disciplina de investigação: que o acúmulo de informações genômicas de várias espécies e o aperfeiçoamento dos métodos matemático-computacionais de análise acabem por conduzir à formalização de leis biológicas propriamente ditas e com base nelas à capacidade de predição com precisão e, portanto, de controle sobre sistemas naturais vivos. O determinismo genético que inspira aberta ou implicitamente muitos de seus esforços, por exemplo, não chega a erigir-se em teoria; quando muito, deve ser encarado como um hábito ou esquema de pensamento que pode ter sido heurístico, em outros tempos, mas que tem uma longa e controversa história – basta dizer que um de seus arrimos, a noção de fluxo unidirecional de informação no sentido DNA → RNA → proteína, recebeu de seu próprio criador, Francis Crick, o apelido de "dogma central da biologia molecular" (como que para marcar a distância enorme em que se encontrava de uma verdadeira lei natural). (Leite, 2006, p. 14).

Não pretendemos, e nem poderíamos aqui enfrentar com maior profundidade este debate, que desperta paixões de lado a lado, embora não é delas que urge nosso interesse, mas das implicações no campo da pesquisa. Apenas para citar um exemplo, Leite ao discutir o PGH, coloca a questão de uma tal maneira que, se naquela época tinha relevância, com a possibilidade real de edição de genes representada por CRISPR, assume novos contornos para os quais uma nova discussão pode ser feita:

A popularidade do Projeto Genoma Humano está intimamente relacionada com o uso político e retórico de um determinismo genético crescentemente irreconciliável com os resultados empíricos da pesquisa genômica atual. A complexidade verificada no genoma humano e em suas interações com o meio desautoriza a manutenção de uma noção simples e unidirecional de causalidade, contrariamente ao pressuposto na ideia de gene como único portador de informação, esteio da doutrina do determinismo genético. Porém, um complexo de metáforas informacionais e/ou linguísticas continua vivo nos textos publicados por biólogos moleculares e outros pesquisadores na literatura científica, notadamente nos artigos veiculados nos periódicos de alto impacto *Nature* e *Science* de 15 e 16 de fevereiro de 2001, respectivamente. Tais metáforas inspiram um tipo de discurso ambíguo que modula nuances variadas de retórica determinista, conforme se dirija aos próprios pares ou ao público leigo. A crítica da tecnociência deve desafiar o campo da genômica a reformular drasticamente as metáforas que dão suporte a seu programa hegemônico de pesquisa. (Leite, 2006, p. 1).

Apenas para finalizar este ponto, não se imagine que o debate apresentado acima esteja superado, dado o tempo transcorrido desde que o PGH apresentou o primeiro rascunho do genoma humano. Com efeito não se supera tradições tão antigas e estruturantes do pensamento e da visão de mundo como as que dizem respeito ao determinismo, apenas pela vontade, pela lógica ou pela força dos fatos.

### **2.1.3 Ferramentas moleculares para edição de genes**

Vão-se mais de quatro décadas de pesquisa desde que a terapia gênica foi apresentada como ideia e o tempo mostrou que a tese aparentemente simples de substituição gênica, na prática é muito mais desafiadora e tecnicamente complexa de se implementar com segurança e eficácia do que o originalmente previsto. (Maeder e Gersbach, 2016). Se por um lado os desafios são grandes, por outro as técnicas de edição gênica os têm enfrentado com disposição e determinação e acompanhado a evolução do conhecimento no campo da genética em posição de vanguarda. Ao mesmo tempo, o ritmo vertiginosamente acelerado com que o conhecimento nesta área avança não deve ser visto como etapas do desenvolvimento, em que uma nova

técnica vem em substituição a outra, como se fosse um formato mais aperfeiçoado, mais eficiente ou mais completo de outra já consolidada no campo da pesquisa. Muito ao contrário, muitas delas coabitam o cotidiano dos laboratórios e não raras vezes são utilizadas em conjunto, por razões bastante pragmáticas: cada técnica tem características, vantagens metodológicas, limitações e resultados específicos bastante diferenciais que lhes conferem possibilidades as vezes únicas em relação às demais, de modo que associar técnicas se tornou uma maneira de atingir objetivos que com uma única ferramenta não seria possível.

Hsu e associados descrevem com entusiasmo as mudanças processadas nas últimas décadas desde que a tecnologia do DNA recombinante foi apresentada nos anos 70:

Recentes avanços nas tecnologias de engenharia do genoma estão provocando uma nova revolução na pesquisa biológica. Ao invés de estudar DNA retirado do contexto do genoma, os pesquisadores podem agora editar diretamente ou modular a função de sequências de DNA em seu contexto endógeno em praticamente qualquer organismo desejado, permitindo-lhes elucidar a organização funcional do genoma no nível de sistemas, bem como identificar as causas das variações genéticas. (Hsu, Lander e Zhang, 2014, p. 1, tradução nossa).

Embora nosso propósito seja discutir CRISPR, incluímos um pequeno resumo das demais técnicas no Apêndice “C” por três razões: 1º há implicações éticas, sociais, genéticas e técnicas que são comuns a todas as elas, de modo que ao discutir uma, ter-se-á uma análise crítica que em certa medida se aplica às demais e possivelmente poderá servir de referência para a análise inclusive de novas técnicas que possam surgir nos próximos anos; 2º as especificidades de cada técnica nos permitem ter uma visão crítica comparativa, o que por si só já é bastante interessante, mas além disso facilita os debates que haveremos de fazer sobre temas como regulação internacional, vez que seria insuficiente olhar questões globais exclusivamente sob uma perspectiva particularizada e, 3º como dissemos alguns parágrafos acima, não raras vezes as técnicas são usadas em associação, de modo que o conhecimento sobre todas elas é condição *sine qua non* para nosso debate.

Atualmente existem quatro técnicas mais conhecidas de edição do genoma: ZFN - *Zinc-finger nucleases* (nucleases dedo de zinco); meganucleases; TALENs - *Transcription Activator-like Effector Nucleases*; e CRISPR - *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* (Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas), esta última mais comumente associada à enzima

Cas9 para formar o sistema de clivagem. Recentemente surgiu uma variante de CRISPR-Cas9 denominada BE - Editores de Base.

As duas primeiras técnicas são baseadas no uso de uma nucleasse, no caso de CRISPR um RNA guia, para promover a quebra na dupla fita de DNA (DSB - Double strand break) em loci específicos para ativar, silenciar (*knock-out*), deletar ou introduzir (*knock-in*) genes de interesse e lançam mão de um dos dois mecanismos de reparo endógenos da maquinaria celular para efetivação do processo de edição, a saber: reparo direcionado por homologia (HDR - *homology-directed repair*) ou junção por união terminal não-homóloga (NHEJ - *non-homologous end-joining*)<sup>38</sup>. A reparação por NHEJ está sujeita a ocorrência de maior número de erros de edição vez que promove o reparo no ponto de clivagem simultânea das duas fitas do DNA sem um modelo de referência. Editores de base se diferenciam por promover a clivagem de apenas uma das duas fitas da dupla fita de DNA. (Cox, Platt e Zhang, 2015; Guerrero, 2018; Liang *et al.*, 2017; Listik, Carmo e Viegas, 2017; Maeder e Gersbach, 2016; Urnov *et al.*, 2010).

Em geral, as técnicas de edição utilizam um vetor para transporte e entrega do pacote de edição. Os vetores mais comumente utilizados são vírus, bactérias e plasmídeos, cujas particularidades tratamos no Apêndice B. A escolha de qual vetor será utilizado depende do tipo de cadeia nucleotídea (DNA, mtDNA, RNA ou microRNA) que será editada, da ferramenta a ser utilizada e das características do vetor específico. Segundo Nabais (2015), os vetores virais<sup>39</sup> (retrovírus, lentivírus, adenovírus e adenoassociados) tem sido amplamente utilizados em razão de sua capacidade inata de transferir material genético para o interior da célula hospedeira, motivo pelo qual durante a preparação do vetor, são preservadas suas características de virulência. No entanto, à exceção dos lentivírus, este tipo de vetor necessita da maquinaria de duplicação da célula hospedeira, o que é um limitador de seu uso em tecidos como músculos, cérebro, pulmão e fígado. Dentre os principais desafios a serem superados no uso de vetores virais constam: a) tempo de terapia curto

---

<sup>38</sup> HDR é um processo no qual o reparo no loci específico de clivagem da fita se dá por homologia a partir de uma sequência modelo, seja ela endógena ou exógena. No caso de NHEJ o reparo é feito sem uma sequência modelo, através da religação direta das extremidades clivadas. Desta forma HDR tem sido mais utilizada para correção de erros em sequências de uma das duas fitas. Por outro lado, nos reparos por NHEJ, há uma maior propensão a mutagênese decorrentes de inserções e/ou exclusões (indels) no loci específico da clivagem. Por este motivo NHEJ tem sido mais utilizado para exclusão ou *knockout* gênico. (Maeder e Gersbach, 2016).

<sup>39</sup> Dentre os vetores virais em uso estão o *herpes simplex* e o *HIV*. (Nabais, 2015).



requerendo múltiplos tratamentos para se alcançar máxima eficácia da terapêutica; b) o risco de o sistema imunológico ser ativado e responder aos vetores utilizados; c) risco de reações inflamatórias tóxicas; d) risco de o vetor recuperar sua capacidade patogênica original, e f) edição fora do alvo com risco de indução de crescimento de tumores, entre outros efeitos adversos. (Nabais, 2015).

Todas as técnicas partem de um esquema básico de edição: 1º localização do loci alvo na cadeia nucleotídea; 2º abertura da dupla fita de DNA; 3º emparelhamento da ferramenta molecular de edição no ponto de clivagem; 4º clivagem da dupla fita de DNA no local definido (no caso dos Editores de Base a clivagem é feita em apenas um das fitas) ; 4º implementação do propósito da edição (ativação, silenciamento, inclusão ou deleção de genes) e, 5º indução do processo de reparo da cadeia nucleotídea por NHEJ ou HDR. As dificuldades no uso de NHEJ e HDR variam em função da técnica utilizada e envolvem: a) elevada ocorrência de erros de edição e, b) é substancialmente mais difícil editar o genoma de células eucariontes em razão do seu tamanho muito grande (da ordem de bilhões de pares de base).

Disto decorre que o tipo de cadeia nucleotídea a ser editada é um dos elementos da equação que definirá qual técnica de edição será adotada em cada projeto. Além disso, o objetivo da edição, o tamanho do pacote de edição a ser entregue, o tipo de vetor, sua capacidade de transportar o pacote e de entregá-lo na célula ou tecido alvo, se *in vivo*, *in vitro* ou *ex vivo* e os potenciais efeitos genotóxicos e imunológicos que possam ser disparados no organismo alvo, como reação ao vetor, compõe os elementos mais gerais da equação. Vários outros fatores particularmente importantes para cada projeto específico se somam a esta complexa equação. (Gaj *et al.*, 2013; Nabais, 2015). A edição *in vivo* envolve um conjunto de desafios próprios adicionais à técnica, ainda por serem superados. (Maeder e Gersbach, 2016). Outras variáveis, de natureza diversa da experimentação e relacionados aos demais aspectos da biologia e do ambiente, incluindo os que tratamos aqui, se somam ao conjunto dos desafios para a realização de pesquisas nesta área, sobretudo para a pesquisa aplicada.

Para Maeder e Gersbach (2016) as pesquisas que vem sendo realizadas no sentido de restringir a duração da atividade das nucleases com mRNA ou proteínas de vida curta, tem sido promissoras na redução dos efeitos fora do alvo, em comparação ao uso de vetores baseados em plasmídeo. Curiosamente, preveem os autores que pesquisas futuras possivelmente serão beneficiadas por formulações

emergentes baseadas em nanopartículas (substâncias a que nos referimos anteriormente), que poderão se revelar vetores eficientes e não tóxicos para a entrega do pacote de edição gênica.

Além disso, ao mesmo tempo em que esforços convergem para aperfeiçoar CRISPR-Cas, tais como xCas9, outras técnicas para edição do genoma vêm sendo pesquisadas ao longo dos últimos anos: uma delas, denominada “mini-me”, baseia-se em uma variante mini-Cas9; outra no uso de enzimas Cpf1 e C2c2; outra numa enzima argonauta denominada NgAgo. Em graus variados de confiança e controversas, pesquisadores buscam aperfeiçoar o conhecimento até aqui alcançado e trilhar novas descobertas que possam avançar e talvez, superar CRISPR-Cas9, quem sabe vencendo os desafios do presente, quem sabe criando outros novos. (Cohen, 2018a; Cyranoski, 2016; Ledford, 2016b; Zetsche *et al.*, 2015).

Na Tabela 1 apresentamos um panorama com as principais características de cada técnica de edição gênica. Não é um quadro que se possa considerar completo ou definitivo, vez que é apenas uma síntese destinada ao nosso propósito de apresentar uma visão geral das ferramentas de edição. De mais a mais, novos conhecimentos são acrescentados muito rapidamente, à medida em que as pesquisas avançam, desafios são superados, domínios de ligação são alcançados com mais especificidade, novos organismos são editados, vetores novos são desenvolvidos, aplicações novas são implementadas e desvantagens são vencidas ou convertidas em especificidades pontuais. De toda forma, para nosso propósito permite que se tenha um panorama geral das técnicas.

Tabela 1 - Comparativo das técnicas de edição gênica.

Técnica	Mediação	Domínio de ligação	Atividade	Objetivo	Organismos alvo ( <i>in vivo, in vitro, ex vivo</i> )	Vetores	Vantagens	Desvantagens
ZFNs	Proteína:DNA	Baseada em fusões de proteínas ZFP com endonucleases capazes de clivar o DNA, geralmente no domínio de enzimas de restrição FokI	As proteínas <i>zinc-finger</i> ligam-se a sequência alvo no DNA para em seguida a enzima de restrição FokI clivar DNA, induzindo mecanismos de reparo por HDR ou NHEJ	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Deleções</li> <li>• Inserções</li> <li>• Inversões</li> <li>• Duplicações</li> <li>• Translocações</li> <li>• <i>Knockout</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Humanos: linhagem somática germinativa, iPSCs</li> <li>• Animais: linhagem somática germinativa, iPSCs</li> <li>• Plantas</li> <li>• Fungos</li> <li>• Protozoários</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vírus**</li> <li>• Plasmídeos</li> <li>• Microinjeção</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• DSBs originadas podem ser usadas para reparar o genoma por NHEJ ou HDR.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Desenho é caro e trabalhoso e mais complexo.</li> <li>• Necessidade de construir uma sequência de ZFs para cada tipo de edição, normalmente com diversas variações até encontrar uma que funcione.</li> <li>• Requer o uso de regiões ricas em guanina (GNN), que raramente ocorrem na maioria dos alvos desejados.</li> <li>• Região de DNA alvo deve ser altamente específico.</li> <li>• Cada ZF reconhece uma sequência de apenas cerca de 3pb.</li> <li>• Ocorrência de mutações fora do alvo.</li> <li>• Risco de taxas elevadas de toxicidade no uso de proteínas para introduzir DSB no genoma causados por efeitos fora do alvo e por níveis de expressão elevados.</li> <li>• Pode desencadear reações do sistema imunológico.</li> <li>• Ocorrência de óbito de pacientes em ensaios clínicos.</li> </ul>
TALENs	Proteína:DNA	Utiliza fusão de domínio de repetições TALE e domínio de endonucleases de FokI, mas com domínios de ligação ao DNA derivados de proteínas TAL	Reconhecimento de nucleotídeos específicos através de um conjunto de repetições similares a de sequências de aminoácidos, com duas pequenas diferenças nas posições 12 e 13 altamente variáveis.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Deleções</li> <li>• Inserções</li> <li>• Inversões</li> <li>• Duplicações</li> <li>• Translocações</li> <li>• <i>Knockout</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Humanos: linhagem somática germinativa, iPSCs</li> <li>• Animais: linhagem somática germinativa, iPSCs,</li> <li>• Plantas</li> <li>• Fungos</li> <li>• Protozoários</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vírus**</li> <li>• Plasmídeos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Similar às ZFNs, porém mais fácil de projetar e utilizar e mais rápido.</li> <li>• As DSBs originadas podem ser usadas para reparar o genoma por NHEJ ou HDR,</li> <li>• DBD é mais customizável.</li> <li>• Capaz de localizar praticamente qualquer sequência de nucleotídeos, desde que exista uma terminação 5'.</li> <li>• Alta taxa de atividade de clivagem, quase ilimitada.</li> <li>• Correções em inversões cromossômicas de sequência longa.</li> <li>• Correções em mutações no mtDNA.</li> <li>• Taxas de mutações fora do alvo e toxicidade menor que ZFNs.</li> <li>• Menos restritivo que ZFNs no que se refere ao tipo de célula-alvo para edição.</li> <li>• Uma variante do sistema TALE, sistema optogênico LITE – <i>light-inducible transcriptional effectors</i>, possibilita regular a atividade de transcrição e direcionar modificações</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Necessidade de construir uma proteína para cada tipo de edição, normalmente com diversas variações até encontrar uma que funcione.</li> <li>• Dificuldade de entregar os monômeros de TALENs, devido ao grande tamanho do complexo e a natureza repetitiva das matrizes TALE em contraponto à capacidade limitada de empacotamento de vetores virais ou plasmídeos.</li> </ul>

							epigenéticas específicas da cromatina para o locus desejado	
<b>Meganucleases</b>	Proteína:DNA	Técnica de reengenharia baseada na forma natural como ocorrem as ligações das endonucleases no DNA.	Utiliza endonucleases quiméricas (proteínas sintéticas derivadas de endonucleases homing) para loci específico para edição de genes, aproveitando os mecanismos naturais de clivagem e recombinação por HDR ou NHEJ	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Deleções</li> <li>• Inserções</li> <li>• Inversões</li> <li>• Duplicações</li> <li>• Translocações</li> <li>• <i>Knockout</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Humanos: linhagem somática e germinativa, iPSCs</li> <li>• Animais: linhagem somática e germinativa, iPSCs,</li> <li>• Plantas</li> <li>• Fungos</li> <li>• Protozoários</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vírus**</li> <li>• Bactérias</li> <li>• Plasmídeos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Menor classe de nucleases sintéticas, permite o empacotamento de múltiplos monômeros, inclusive para múltiplos DSBs em um único vetor viral.</li> <li>• DSB resultante produz uma saliência 3' que pode ser mais acessível para HDR do que a 5' gerada por FokI.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Difícil de separar os domínios de clivagem das DBDs.</li> <li>• Difícil de projetar proteínas com novas especificidades.</li> <li>• Necessidade de construir uma proteína para cada tipo de edição, normalmente com diversas variações até encontrar uma que funcione.</li> <li>• Funcionalidade está mais associada com correção de genes mutados.</li> </ul>
<b>CRISPR-Cas9</b>	gRNA-Cas9: DNA	O crRNA de 20 nucleotídeos é fundido com um tracrRNA e uma endonuclease Cas9 que reconhece uma sequência específica de nucleotídeos por complementaridade de crRNA-DNA.	Clivagem do DNA altamente específica, pode induzir o reparo por HDR ou NHEJ. A primeira possibilita a inserção de uma sequência de DNA artificial flanqueado por sequências similares a que se encontram no DNA original do organismo, ou a deleção de segmento de DNA pela indução de duas DSBs sem o fornecimento de um molde de DNA para reparo. A NHEJ induz a junção das	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Deleções</li> <li>• Inserções</li> <li>• Inversões</li> <li>• Duplicações</li> <li>• Translocações</li> <li>• <i>Knockout</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Humanos: linhagem somática e germinativa, iPSCs</li> <li>• Animais: linhagem somática e germinativa, iPSCs,</li> <li>• Plantas</li> <li>• Fungos (levedura)</li> <li>• Protozoários</li> <li>• Bactéria</li> <li>• Archeobactérias</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vírus**</li> <li>• Bactérias</li> <li>• Plasmídeos/DNA nu</li> <li>• Nanopartículas</li> <li>• Microinjeção</li> <li>• Transposon*</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sistema mais versátil, de simples confecção e escalonamento em relação às demais técnicas.</li> <li>• Custos substancialmente mais baixos.</li> <li>• Reparo por NHEJ e HDR.</li> <li>• Existindo uma sequência PAM no gene alvo, pode ser direcionado e clivar praticamente qualquer sequência de DNA,</li> <li>• Clivagem mais eficiente que outras técnicas</li> <li>• Maior estabilidade do componente proteico Cas9 após promover DSBs.</li> <li>• Permite promover a edição de múltiplos loci simultaneamente.</li> <li>• Diagnóstico</li> <li>• Maior eficácia na eliminação de vírus em células infectadas e células tumorais que outras técnicas.</li> <li>• A programação de novas sequências alvo é feita alterando apenas a região curta do gRNA que determina a especificidade.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pode induzir a mutações e rearranjos fora do alvo desejado: deleções extensas de muitos kilobases, lesões em regiões distantes do ponto de clivagem e eventos cruzados. Embora existam novas Cas9 aprimoradas para reduzir esses problemas, ainda levará tempo para que isso deixe de ser um problema</li> <li>• Melhor funcionamento em células com p53 não funcional o que pode levar seleção não intencional de células com potencial tumorigênico.</li> <li>• Erros de desemparelhamento na extremidade 5' podem ter efeitos indesejados</li> <li>• O mecanismo evolutivo do sistema CRISPR-Cas não é completamente conhecido.</li> <li>• O mecanismo de transferência horizontais ou laterais de pacotes CRISPR-Cas através de megaplasmídeos ou bacteriófagos não é completamente conhecido.</li> <li>• Reparo por NHEJ mais frequente que HDR, geralmente responsável por mutações indesejadas, erros no reparo de DNA e baixa taxa de HDR.</li> </ul>

			extremidades de forma aleatória, podendo ocorrer a inserção ou deleção de sequências de nucleotídeos.		<ul style="list-style-type: none"> <li>Organismos sintéticos</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>Disponibilidade de grandes bibliotecas de gRNAs adaptáveis para quase todos os genes de um organismo hospedeiro.</li> <li>Alternativamente, pode-se desenhar um gRNA com softwares a partir de sequências de referência disponíveis no banco de dados do <i>National Center for Biotechnology Information</i> (NCBI).</li> <li>Alteração epigenética</li> <li>Regular a expressão de genes endógenos e marcar lócus específicos do cromossomo (dCas9 associada a outras enzimas e proteínas). ***</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mosaicismo</li> </ul>
DNA BE (DNA base editors)	gRNA-Cas9: DNA	O crRNA de 20 nucleotídeos é fundido com um tracrRNA e uma endonuclease Cas9 que reconhece sequências específicas de pares de bases.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Utiliza o mesmo mecanismo de CRISPR-Cas9 original, no entanto promove a quebra de apenas uma fita da dupla fita de DNA para induzir reparo por HDR em pares de base.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Correções pontuais em pares de base (ACTG)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Humanos: linhagem somática germinativa, iPSCs</li> <li>Animais: linhagem somática germinativa, iPSCs,</li> <li>Plantas</li> <li>Fungos (levedura)</li> <li>Protozoários</li> <li>Bactéria</li> <li>Arqueobactérias</li> <li>Organismos sintéticos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vírus**</li> <li>Bactérias</li> <li>Plasmídeos</li> <li>Microinjeção</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Contém basicamente as vantagens de CRISPR-Cas9 com a diferença de que a clivagem e correções em apenas um dos pares de base - nickases</li> <li>Menor taxa de cortes fora do alvo (<i>off-target</i>) e de indels.</li> <li>Substituição mitocondrial, fusiforme ou pronuclear</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Restrito a edição de apenas de pares de base (ACTG).</li> <li>Não está ainda esclarecido qual o nível de indução de mutações e rearranjos fora do alvo desejado: deleções, lesões em regiões distantes do ponto de clivagem e eventos cruzados.</li> <li>Preocupações quanto a sua aplicabilidade terapêutica.</li> <li>O mecanismo evolutivo do sistema CRISPR-Cas não é completamente conhecido.</li> <li>O mecanismo de transferência horizontais ou laterais de pacotes CRISPR-Cas através de megaplasmídeos ou bacteriófagos não é completamente conhecido.</li> </ul>

Fonte: adaptado de Cohen (2018a); Epinat (2003); Guerrero (2018); Listik, Carmo e Viegas (2017); Lourenço (2016); Maeder e Gersbach (2016); Nabais (2015); O'Geen *et al.* (2017); Silva *et al.* (2011); Vasconcelos e Figueiredo (2016).

iPSCs - células estaminais pluripotentes induzidas

DSBs- quebras nas duplas fitas de DNA

DBDs- domínios de ligação no DNA

IDLV – vetor lentiviral de integração deficiente, também conhecido como vetor não integrativo (*integrase-deficient lentiviral vectors*) e retrovírus)

AAV - vetores adenoassociados

rAAV – vetores recombinantes adenoassociados (*recombinant adeno-associated virus*)

nickases – quebra em apenas uma das duas fitas de DNA

crRNA – CRISPR RNA

mtDNA – DNA mitocondrial

\* Eventualmente associado aos outros vetores.

\*\* Em geral são retiradas as características de patogenicidade do vetor viral, mas mantida a virulência para que ele possa ser capaz de atingir a célula alvo e entregar o pacote de edição. A escolha do vetor depende de um conjunto de variáveis do projeto que incluem as características da ferramenta molecular de edição, o tamanho do pacote de edição a ser entregue na célula, o tecido-alvo, etc. Estão incluídos entre os vetores virais os adenovírus, rAAV lentivírus, IDLV.

\*\*\* O mecanismo de regulação de expressão de genes endógenos, dCas9 (*CRISPR-Cas9 systems/CRISPR-Cas9 repression systems*) associada com outras enzimas, ex: Dcas9-Krab, consiste na exclusão do motivo catalítico para clivagem do DNA pela Cas9 original para permitir apenas a fusão de proteínas fluorescente e/ou com ativadores ou repressores que permitem a regulação da atividade de um gene.

### 2.1.3.1 CRISPR

Apresentamos a seguir um apanhado sobre antecedentes históricos de CRISPR, sobre aspectos da atualidade da técnica e alguns avanços e perspectivas em relação ao futuro próximo. Destacamos que neste conjunto estão incluídas questões que serão importantes para os debates sobre biossegurança e bioproteção, bem como para a reflexão que faremos sobre CRISPR frente a realidade do mundo atual.

#### 2.1.3.1.1 CRISPR – alguns antecedentes históricos

No decorrer da evolução, bactérias e archaea, desenvolveram um mecanismo próprio de defesa adaptativa contra ataques de organismos invasores, mormente vírus bacteriófagos, composto basicamente por três elementos-chave: repetições diretas de pares de base de DNA, sequências de espaçadores e proteínas Cas. Esse mecanismo recebeu o nome de CRISPR – *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*, (Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas) – vide na Figura 1 exemplo de estrutura palindrômica em DNA. (Chakraborty *et al.*, 2010; Liang *et al.*, 2015a; Woese e Fox, 1977).

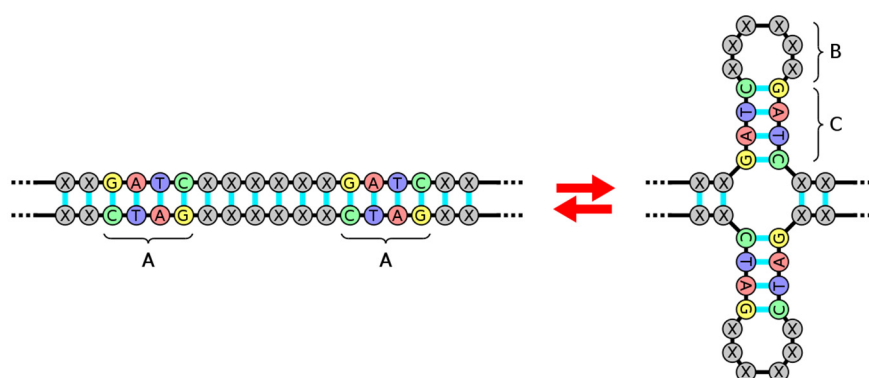


Figura 1 – Palíndromo em estrutura de DNA

Legenda: A: Palindrome B: Loop C: Stem –

Fonte: Tosaka - ISBN 9784758120029,

<[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Palindrome\\_of\\_DNA\\_structure.PNG#filelinks](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Palindrome_of_DNA_structure.PNG#filelinks)>

Resumindo, quando uma bactéria é atacada por um vírus, este deposita o seu DNA dentro da bactéria - de maneira similar ocorre em eventos com plasmídeos, que tratamos no Apêndice B. Como reação, a bactéria dispara seu mecanismo de defesa, que consiste em selecionar um fragmento do DNA viral, em torno de 20 pares de base,

constituídos de pequenas repetições separadas por protoespaçadores que formam uma sequência palindrômica (CRISPR) suficiente para caracterizar o DNA viral. Este fragmento de código é incorporado pela bactéria ao seu DNA. Ao longo do tempo, a bactéria vai compondo em seu DNA uma “biblioteca” de fragmentos de DNA exógeno que representam o registro de todos os ataques sofridos. (Liang *et al.*, 2015a; Nabais, 2015). Na ocorrência de um novo ataque, a sequência CRISPR incorporada é transcrita em crRNA que reconhece o DNA invasor pelo emparelhamento de bases e recruta uma CAS (endonuclease endógena) capaz de fazer a clivagem da fita do DNA invasor, impedindo a progressão do ataque e replicação do mesmo. (Barrangou *et al.*, 2007; Zhang, 2015a). Este sistema foi inicialmente descrito por Ishino *et al.* (1987) em estudo com *Escherichia coli* e diversos trabalhos posteriores permitiram ampliar o conhecimento sobre este mecanismo.

Em 2012 Doudna, Charpentier e associados publicaram na revista Science artigo no qual comunicaram que o sistema CRISPR-Cas9 poderia ser adaptado em laboratório para fins de edição gênica (vide Figura 2):

Os sistemas de repetições palindrômicas curtas e regularmente interespaçadas (CRISPR)/CRISPR-associados (Cas) proveem bactérias e archaea com imunidade adaptativa contra vírus e plasmídeos usando RNAs CRISPR (crRNAs) para guiar o silenciamento de ácidos nucléicos invasores. Mostramos aqui que, em um subconjunto desses sistemas, o crRNA maduro que é pareado por base com o crRNA transativado (tracrRNA) forma uma estrutura de dois RNAs que direciona a proteína Cas9 associada a CRISPR para introduzir quebras de dupla fita (ds) no DNA alvo. Em locais complementares à sequência guia-crRNA, o domínio da nuclease Cas9 HNH cliva a cadeia complementar, enquanto o domínio semelhante a Cas9 RuvC cliva a cadeia não complementar. O dual-tracrRNA:crRNA, quando manipulado como uma única quimera de RNA, também direciona Cas9 para a clivagem de sequência específica de dsDNA. Nosso estudo revela uma família de endonucleases que usam dual-RNAs para a clivagem do DNA em local específico e destaca o potencial de explorar o sistema RNA-programável para edição do genoma. (Jinek *et al.*, 2012, p. 1, tradução nossa)

Logo em seguida Feng Zhang e associados publicaram na mesma revista Science artigo comunicando uso com sucesso do sistema CRISPR-Cas9 em células de camundongos e humanas:

A elucidação funcional de variantes e elementos genéticos causais requer tecnologias precisas de edição do genoma. O CRISPR procariótico do tipo II (repetições palindrômicas curtas agrupadas e regularmente interespaçadas) /CAS, sistema imunológico adaptativo, demonstrou facilitar a clivagem do DNA em local específico guiada por RNA. Nós projetamos dois sistemas CRISPR/Cas tipo II diferentes e demonstramos que as nucleases Cas9 podem ser direcionadas por RNAs curtos para induzir clivagem precisa em lócus genômicos endógenos em células humanas e de camundongos. Cas9 também pode ser convertido em uma enzima decaída para facilitar o reparo

dirigido por homologia com atividade mutagênica mínima. Por fim, múltiplas sequências guia podem ser codificadas em um único conjunto CRISPR para permitir a edição simultânea de vários locais dentro do genoma de mamíferos, demonstrando fácil programabilidade e ampla aplicabilidade da tecnologia de nucleases guiadas por RNA. (Cong *et al.*, 2013, p. 1, tradução nossa).

Como técnica de edição do genoma, CRISPR-Cas9 utiliza moléculas de RNA capazes de reconhecer sequências específicas no DNA alvo. Tais RNAs têm a função de guiar a nuclease para a localização correspondente no genoma. Isso torna CRISPR-Cas9 o processo de edição mais simples porque se baseia no emparelhamento de RNA-DNA, diferentemente da engenharia de proteínas que se ligam a sequências de DNA específicas. (Lanphier *et al.*, 2015).

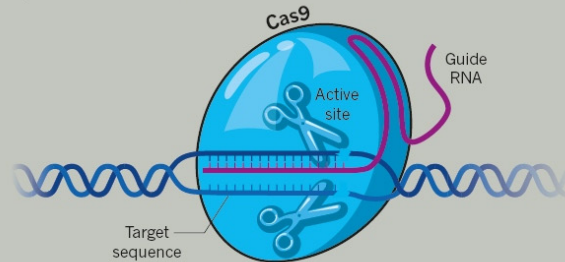


## HACKING CRISPR

By modifying the molecular machinery that powers CRISPR–Cas9 gene editing, scientists can probe the functions of genes and gene regulators with unprecedented specificity.

### Snip snip here

There are two main components of CRISPR–Cas9: the Cas9 enzyme, which cuts DNA, and a snippet of RNA that guides these molecular scissors to the sequence that scientists want to cut.

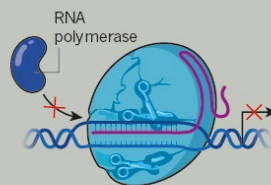


### Broken scissors

The Cas9 enzyme can be broken so that it no longer cuts DNA. But with the right guide RNA, it can still attach to specific parts of the genome.

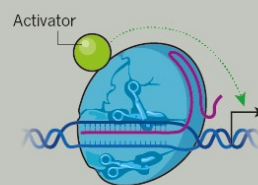
#### CRISPR inhibition

A broken, or 'dead', Cas9 enzyme will block the binding of other proteins, such as RNA polymerase, needed to express a gene.



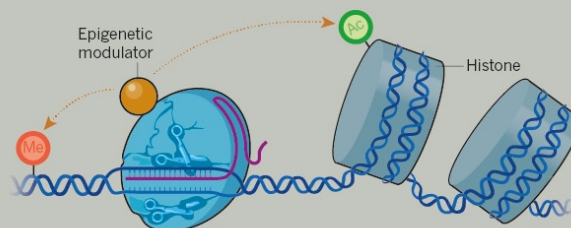
#### CRISPR activation

An activating protein can be attached to a dead Cas9 protein to stimulate expression of a specific gene.



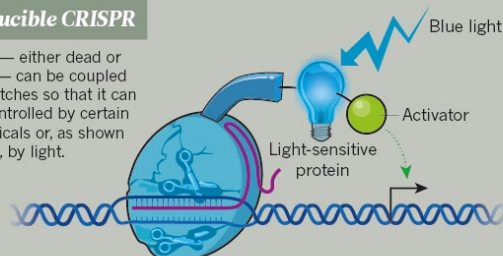
### CRISPR epigenetics

A broken Cas9 enzyme can be coupled to epigenetic modifiers, such as those that add methyl groups (Me) to DNA or acetyl groups (Ac) to histone proteins. This will allow researchers to study how precisely placed modifications affect gene expression and DNA dynamics.



### Inducible CRISPR

Cas9 — either dead or alive — can be coupled to switches so that it can be controlled by certain chemicals or, as shown below, by light.



©nature

Figura 2 - Esquema dos mecanismos de ação de CRISPR-Cas9  
Fonte: Nik Spencer/Nature. (Ledford, 2016a).

Atualmente o sistema CRISPR-Cas é tipificado em três grupos principais: tipos I, II e III e onze subtipos. Os tipos I e III tem sido encontrados em bactérias e archaea, já o tipo II parece estar presente apenas em bactérias. Embora todas as variantes compartilhem o mesmo propósito de imunidade adaptativa, os vários subtipos utilizam proteínas Cas diferentes para operar o mecanismo capaz de executar as tarefas básicas do sistema: memorização, biogênese do crRNA e interferência. (Charpentier, 2015).

Foi proveniente de *Streptococcus thermophilus* (associada à fermentação de produtos lácteos) o primeiro experimento feito por Barrangou e Horvath (2012) e Barrangou e Marraffini (2014) em laboratório, no qual se demonstrou a função da imunidade adaptativa no tipo II-A. Os estudos sobre CRISPR tipo II em *S. pyogenes*<sup>40</sup> são considerado um marco no estudo deste sistema. (Charpentier, 2015). *Citomegalovírus*<sup>41</sup> e outros organismos bacterianos, tais como, *Staphylococcus aureus*<sup>42</sup>, *Neisseria meningitidis*<sup>43</sup> e *Treponema denticola*<sup>44</sup> tem sido utilizados como vetores em experimentos em sistemas CRISPR-Cas. A escolha pelo uso de Cas9 (Tipo II) para edição reside, entre outros, no fato de a mesma conter a fusão de todos os domínios que são necessários para a clivagem do alvo dentro de uma única proteína. (Koonin e Makarova, 2013; Listik, Carmo e Viegas, 2017; Maeder e Gersbach, 2016; Nabais, 2015).

Em razão das características próprias de cada tecido, a terapia *ex vivo* é mais comumente utilizada para o tratamento de células do sangue, pele e músculo, ao passo que a terapia *in vivo* vem sendo aplicada em células como as do fígado e cérebro, nas quais se emprega vetores virais ou não virais para a entrega do pacote de edição. (LaFountaine, Fathe e Smyth, 2015).

Eventualmente, edições altamente eficientes por HDR mediadas por CRISPR-Cas9, em conjunto com uma cadeia simples de oligonucleotídeos de DNA de fita

---

<sup>40</sup> A bactéria *S.pyogenes* está associada a patologias como faringite, escariatina, fascite necrosante, celulite, eripelas, impetigo, síndrome de choque tóxico e em raras vezes, psoríase gutata.

<sup>41</sup> *Citomegalovírus* pertencente ao grupo dos *Herpes-vírus*.

<sup>42</sup> *Staphylococcus aureus* é associada à síndrome de choque tóxico, gastroenterite estafilocócica, síndrome de pele escaldada estafilocócica, impetigo, foliculite, endocardite, osteomielite e pneumonia.

<sup>43</sup> *Neisseria meningitidis* é associada a meningite sem bacteriemia, meningite com bacteriemia, meningococemia sem meningite, meningococemia com meningite ou meningite meningocócica, pneumonia, artrite e uretrite.

<sup>44</sup> *Treponema denticola* é associado a periodontite.

simples, podem ter como efeito colateral mutações induzidas por NHEJ, o que poderia levar a uma diminuição da eficiência do sistema, e potencialmente aumentar a ocorrência de edições fora do alvo. (Sander e Joung, 2014).

Como ferramenta de edição, basicamente o que o pesquisador precisa fazer é fornecer à Cas9 a sequência correta, chamada RNA guia, para localizar o alvo desejado e cortar o DNA. Concluída esta etapa, segue-se o propósito do processo de edição propriamente dito no gene alvo, quer seja a correção de uma mutação, o silenciamento, a deleção ou a introdução de um gene por HDR ou NHEJ. Além disso, a edição pode ser realizada simultaneamente em vários locais diferentes (Barrangou *et al.*, 2007; Brouns *et al.*, 2008), e direcionado para clivar virtualmente qualquer sequência de DNA após a programação do crRNA para o alvo. (Charpentier, 2015).

#### 2.1.3.1.2 CRISPR - atualidades

Doudna e Charpentier receberam prêmio de aproximadamente US\$ 3 milhões pela descoberta no Life Sciences de 2015. (Brin *et al.*, 2015; Doudna e Charpentier, 2014). Ao mesmo tempo a publicação quase simultânea dos dois artigos ensejou uma disputa com Feng Zhang nos tribunais norte-americanos pelos direitos comerciais relacionados, através de suas respectivas instituições: Universidade da Califórnia contra o consórcio composto pelo Broad-Instituto de Tecnologia de Massachusetts e Harvard. (Achenbach e Johnson, 2017; Cohen, 2018b; Gazeta do Povo, 2016; OFFICE, 2017). Consta que até final de 2014 ou início de 2015 haviam sido registradas mais de uma dúzia de novas patentes e mais 100 pedidos novos que incluíam reivindicações de autoria ou descreviam aplicações para o sistema CRISPR-Cas9. (Sherkow, 2015). Evidentemente isto tem algum significado, aliás vários: econômicos, geopolíticos, sociais, legais, científicos, etc., e cada um deles envolve questões éticas que merecem atenção. Vamos discutir algumas delas mais adiante.

Lacadena (2017, p. 7, tradução nossa) infere que CRISPR-Cas9 é o resultado da mistura de três fatores: “curiosidade pessoal (tentar entender a repetição de sequências no DNA de bactérias tolerantes ao sal), exigência militar (defesa contra armas biológicas) e a aplicação industrial (melhorar a produção de iogurte)”.

Comparativamente às demais técnicas discutidas no Apêndice C, que se valem da afinidade proteína-sequência para localização dos loci alvo, as nucleases CRISPR-Cas, por utilizarem RNA guia para esta tarefa, não requerem a montagem

de uma proteína nova que contenha a especificidade necessária para cada lócus alvo no DNA, o que por si só é uma grande vantagem. No caso de CRISPR-Cas, alterações na região curta do RNA guia que determina a especificidade é suficiente para redirecioná-lo para novos loci, o que também facilita sobremaneira a montagem da ferramenta molecular. (Guerrero, 2018; Maeder e Gersbach, 2016).

Recentemente Gantz e Bier (2015) partindo da ideia de que seria possível converter mutações heterozigotas em homozigotas, implementaram modificações em CRISPR-Cas9 para construir uma maneira de promover o que chamaram de Reação Mutagênica em Cadeia (MCR), que mais tarde veio a ser denominada “*gene drive*”<sup>45</sup>, utilizando exemplares de *Drosophila melanogaster*. Ledford explica como uma reação deste tipo (que apenas um ano antes se considerava que levaria muito tempo para ser conseguida) funciona e como poderia impactar sobre uma população:

Geralmente, uma mudança genética em um organismo leva muito tempo para se espalhar por uma população. Isso porque uma mutação realizada em um dos cromossomos é herdada por apenas metade dos descendentes. Mas um impulso genético [*gene drive*, vide Figura 3] permite que uma mutação feita por CRISPR em um cromossomo se copie para seu parceiro em cada geração, de modo que quase todos os descendentes herdem a mudança. Isto significa que ela irá se propagar através de uma população exponencialmente mais rápida do que o normal - uma mutação projetada em um mosquito pode se espalhar através de uma grande população dentro de uma estação. Se essa mutação reduzisse o número de descendentes produzidos por um mosquito, então a população poderia ser exterminada<sup>46</sup>, junto com qualquer parasita da malária que estivesse transportando. (Ledford, 2015a, p. 22, tradução nossa).

---

<sup>45</sup> Segundo Heitman, Sawyer e Collins (2016) *gene drive* [impulso genético] é um fenômeno natural enviesado da herança genética, visto em genética mendeliana tradicional, em que mecanismos tais como de impulsos meióticos, homing endonuclease, (endonucleases de origem) e elementos transponíveis podem causar a propagação de certos traços à população com taxas superiores a 50%. O experimento de Gantz e Bier (2015), demonstrou ser possível reproduzir este fenômeno artificialmente, utilizando CRISPR-Cas9.

<sup>46</sup> Alguns autores têm usado o termo “bala de prata” para se referir a *gene drive*, em substituição aos mecanismos de Controle Biológico Clássico, para o manejo de espécies exóticas invasoras altamente ameaçadoras do equilíbrio de ecossistemas específicos. (Webber, Raghu e Edwards, 2015).

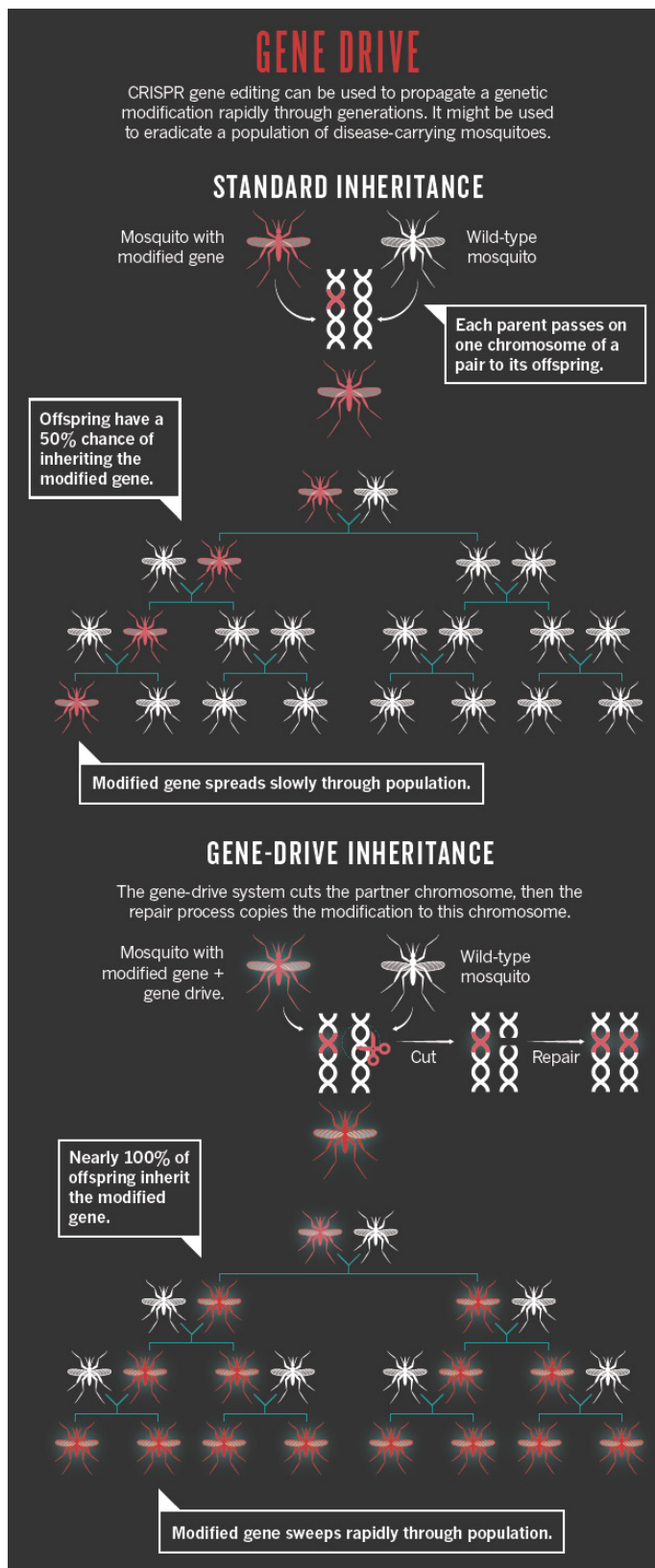


Figura 3 – Resumo esquemático: herança padrão (Mendeliana) e herança por gene drives  
 Fonte: Ledford (2015a), *Publications: Scopus; Patents: The Lens; Funding: NIH RePORTER*

Torres, T. Teixeira, em entrevista a Hebmüller, chama a atenção para o potencial surpreendente do resultado obtido nesse experimento:

A “luz de alerta” sobre CRISPR-Cas9 foi acesa com o trabalho de Valentino Gantz e Ethan Bier, [...]. Utilizando a técnica [CRISPR-Cas9] com uma pequena modificação, os cientistas alteraram um gene, chamado *yellow*, de um macho de *Drosophila melanogaster* (uma espécie de inseto) e o cruzaram com uma fêmea selvagem. Mutações nesse gene alteram a coloração das moscas, que se tornam mais claras. Como o alelo era recessivo, as fêmeas geradas deveriam ser selvagens, mas o alelo do macho mudou o alelo da fêmea, e todas as descendentes eram de coloração amarela. ‘Acabou-se com qualquer variação que existia nesse ponto, e todas ficaram iguais. Foi isso que gerou o susto: uma vez liberado no ambiente, esse indivíduo poderia fazer com que toda uma população tivesse esse alelo. (Hebmüller, 2016, tradução nossa).

Além disso, Gantz e Bier (2015) indicaram que todas as células, tanto em linhagem somática como germinal sofrerão edição e sugerem que todas as fêmeas resultantes e descendentes possivelmente se tornaram portadoras de DNA mosaico. No mesmo ano, em outro experimento, Gantz *et al.* (2015), utilizando um plasmídeo *pAsMCRkh2* introduziram *gene drive* em *Anopheles stephensi*, vetor de malária asiática, com taxa de sucesso na progênie de 99,5%, confirmando o potencial da técnica para gerar impulso genético capaz de alterar uma população de mosquitos patógenos. Na mesma linha, Hammond *et al.* (2016) editaram experimentalmente o locus *AGAP007280*, introduzindo *gene drive* em *Anopheles gambiae*, outro vetor da malária, para induzir descendentes estéreis e induzir a eliminação de uma população, alcançando taxas de transmissão para progênie de 91 a 99,6%.

Harrison *et al.* (2014) fez um interessante painel sobre que tipo de organismos vertebrados, invertebrados e plantas (não incluídos procariontes) haviam sido editados com CRISPR-Cas9 até 2014, portanto apenas dois anos após a descoberta da técnica (Tabela 2). Certamente uma atualização modificaria substancialmente o quadro, de toda forma, chama a atenção: 1º a variedade de organismos editados em tão pouco tempo, numa fase tão inicial de desenvolvimento da técnica; 2º o uso majoritário de mecanismo de reparo da dupla fita de DNA por NHEJ; 3º a ampla incidência de edição em organismos inteiros em detrimento de culturas celulares e, 4º alta incidência de edição em linhagem germinativa.

Tabela 2 - Organismos que foram modificados usando o sistema CRISPR-Cas9 até 2014.

Organismo		Mutações induzidas em		Mecanismo de reparo	
		Cultura de células	Organismo (hereditariedade?)	NHEJ	HDR
Vertebrados	Salamandra		✓	✓	
	Rã		✓sim	✓	
	Humano	✓		✓	✓
	Medaka		✓sim	✓	
	Camundongo	✓	✓sim	✓	✓
	Macaco		✓sim	✓	
	Porco	✓	✓sim	✓	
	Coelho		✓	✓	
	Rato	✓	✓sim	✓	✓
	Tilápia		✓sim	✓	
	Zebrafish		✓sim	✓	✓
	Invertebr	Pulga de água doce		✓sim	✓
Mosca da fruta		✓	✓sim	✓	✓
Lombriga			✓sim	✓	✓
Bicho-da-seda		✓	✓sim	✓	✓
Plantas	Milho		✓		
	Hepáticas (Marchantiophyta)		✓sim	✓	
	Arroz		✓sim	✓	
	Sorgo		✓	✓	
	Laranja doce		✓	✓	
	Agrião thale		✓sim	✓	✓
	Tabaco		✓sim	✓	✓
	Trigo	✓		✓	

Fonte: adaptado de Harrison *et al.* (2014, p. 1863).

Nota: na tabela acima estão inclusos somente organismos utilizados para desenvolvimento de plataformas de pesquisa, adaptado de Harrison *et al.* (2014).

Chakraborty *et al.* (2010, p. 879) fizeram intrigante questionamento sobre o sistema CRISPR-Cas: “As repetições diretas (DR) [repetições palindrômicas] e os genes Cas estão evoluindo? Se sim, qual é a base dessa coevolução? E finalmente, qual é a possível origem dos sistemas CRISPR-Cas?”. Partindo dos trabalhos de Godde e Bickerton (2006) e Haft *et al.* (2005), que demonstraram que genes Cas estão sujeitos à transferência horizontal de genes; nos estudos de Yang e Nielsen (2000) e Tomoko (1995), sobre a natureza da pressão seletiva que governa a evolução de genes e proteínas; de filogenia molecular de Dewhirst *et al.* (2005), bem como de Makarova *et al.* (2006) para marcador universal para os genes Cas em Sistemas CRISPR; realizaram comparativo entre os padrões evolutivos das repetições diretas, Cas1 e 16S rRNA de 100 espécies bacterianas diferentes. A conclusão, particularmente interessante, do estudo foi de que:

[...] considerando todas as evidências apresentadas neste estudo, nós raciocinamos que os genes DR e Cas compartilham uma origem ancestral

comum e coevoluíram como um pacote. A sua ocorrência em diferentes genomas bacterianos pode ser conseguida por meio de eventos de transferência horizontais ou laterais através de megaplasmídeos ou bacteriófagos. (Chakraborty *et al.*, 2010, p. 886, tradução nossa).

Aliás, por falar em evolução, discussão que fizemos logo de partida, Koonin e Makarova (2013a) fizeram estudo sobre “*CRISPR-CAS - Evolution of an RNA-based adaptive immunity system in prokaryotes*” (“CRISPR-CAS - Evolução de um sistema de imunidade adaptativa baseado em RNA em procariontes”), no qual chamam a atenção para uma interessante reflexão: “[...] CRISPR-Cas é o caso mais óbvio de herança Lamarckista, pelo qual um organismo reage a uma sugestão ambiental ao gerar uma modificação hereditária do genoma que fornece uma resposta adaptativa a essa sugestão específica”. Outro aspecto interessante levantado é que este sistema pode ter evoluído de um sistema imune inato para um sistema adaptativo.

Estas duas questões acima apontadas talvez não tivessem relevância para nossa discussão não fosse o fato de que a maneira como o sistema CRISPR-Cas evolui pode ter impactos profundos sob o ponto de vista da biossegurança, tema que iremos discutir mais adiante.

A respeito das edições *off-target* (clivagem fora do alvo), um dos principais problemas da técnica, Maeder e Gersbach (2016) chama atenção para o fato de que o uso do sequenciamento do genoma completo de uma pequena amostra de células, embora possa ser utilizado como indicativo de não ocorrência de efeitos fora do alvo, não é capaz de identificar a ocorrência de clivagem em baixa frequência em populações de células em massa, além disso os sítios de ligação fora do alvo não são preditivos para a atividade do gRNA.

Kosicki, Tomberg e Bradley (2018) relatam significativa mutagênese nos locais-alvo editados com CRISPR-Cas9, dentre elas grandes deleções e rearranjos genômicos complexos. A pesquisa foi feita com células-tronco embrionárias de camundongos, progenitores hematopoiéticos de camundongos e uma linhagem celular humana diferenciada<sup>47</sup>, usando sequenciamento de leitura longa e genotipagem de PCR de longo alcance. Os resultados evidenciaram que quebras de DNA introduzidas por CRISPR-Cas9 frequentemente resultaram em deleções

---

<sup>47</sup> A linhagem celular humana diferenciada se refere a células-tronco embrionárias masculinas, que segundo os autores, a opção pelo seu uso para o estudo proposto se deveu ao fato de as mesmas terem um cariótipo mais convencional e mecanismos de reparo de DNA intacto, o que as tornaria mais representativas de uma célula somática padrão. (Kosicki, Tomberg e Bradley, 2018).



extensas de muitos kilobases, lesões em regiões distantes do ponto de clivagem e eventos cruzados, de forma que o dano genômico constatado em células mitoticamente ativas no processo de edição com CRISPR-Cas9 pode ter consequências patogênicas:

A edição neste estudo foi conduzida em loci ativamente transcritos em células ES [células tronco embrionárias] normais e células progenitoras, ambas com processos de reparo de DNA intactos, bem como em uma linha celular humana imortalizada e diferenciada; cada um é substituto para vários aplicativos de edição clínica. Nós mostramos que o dano genômico extenso no alvo é um resultado comum em todos os loci e em todas as linhas celulares testadas. Além disso, as consequências genéticas observadas não se limitam ao locus alvo, pois eventos como a perda de heterozigose revelam alelos recessivos, enquanto translocações, inversões e deleções provocam consequências transcricionais de longo alcance. Dado que um locus alvo presumivelmente seria transcricionalmente ativo, mutações que justapõem isso a uma das centenas de genes de câncer podem iniciar a neoplasia. No contexto clínico da edição de muitos bilhões de células, a multiplicidade de mutações geradas torna provável que uma ou mais células editadas em cada protocolo sejam dotadas de uma importante lesão patogênica. Tais lesões podem constituir um primeiro "ataque" carcinogênico em células-tronco e progenitoras, que têm uma longa vida replicativa e podem se tornar neoplásicas com o tempo. Tal circunstância seria semelhante à ativação de LMO2 por inserção pró-viral em alguns dos primeiros ensaios de terapia gênica, que causaram câncer nesses pacientes [(Hacein-Bey-Abina *et al.*, 2003)]. Os resultados aqui relatados também ilustram a necessidade de examinar minuciosamente o genoma quando a edição é realizada *ex vivo*. Como o dano genético é frequente, extenso e indetectável pelos ensaios de PCR de curto alcance que são comumente usados, uma análise genômica abrangente é necessária para identificar células com genomas anormais antes da administração ao paciente. (Kosicki, Tomberg e Bradley, 2018, p. 6, tradução nossa).

Significante também é o fato observado de que “Se a avaliação tivesse sido limitada à vizinhança imediata do local de clivagem, tais alelos teriam sido classificados erroneamente como tipo selvagem, e suas consequências fenotípicas teriam sido subestimadas”. (Kosicki, Tomberg e Bradley, 2018, p. 1).

No que se refere ao incidente com os pacientes constante na citação acima, Hacein-Bey-Abina *et al.* (2003) haviam noticiado anteriormente (Hacein-Bey-Abina *et al.*, 2002), o uso de terapia gênica<sup>48</sup> para a doença de imunodeficiência severa relacionada ao cromossomo X por transferência do gene  $\gamma c$  utilizando vetor viral para células CD34 em procedimento *ex vivo*, retroviralmente. Dos quatro pacientes tratados, relataram a ocorrência de evento adverso grave em um deles (leucemia linfoblástica aguda), detectado apenas 30 meses após o procedimento, em um exame

---

<sup>48</sup> Os vetores virais e, alternativamente plasmídeos, têm sido amplamente utilizados em pesquisas com terapias gênicas, vide Tabela 1. (Simão-Silva *et al.*, 2017).

de rotina: “*Um sítio de integração proviral foi encontrado, localizado no braço curto do cromossomo 11 dentro do locus LMO-2*”. Duas medidas subsequentes foram adotadas: 1º foi iniciado tratamento por quimioterapia “*baseado em um protocolo de alto risco para leucemia linfocítica aguda (um protocolo do Grupo de Estudo da Leucemia Holandesa na Infância)*” e 2º propuseram às autoridades reguladoras francesas a suspensão do estudo para entender melhor o evento adverso e reavaliar os riscos e benefícios envolvidos. Chama especial atenção a possível causa deste processo de integração viral ocorrido durante o tratamento com a terapia gênica especificada: “*Interpretamos esses achados como consequência do evento de mutagênese insercional, um risco potencialmente associado à transferência gênica mediada por retrovírus e anteriormente considerado muito baixo em humanos*”. (Kosicki, Tomberg e Bradley, 2018, p. 255, tradução nossa).

Outro aspecto particularmente interessante é o relatado por Koonin e Makarova (2013a). Segundo os pesquisadores, na sua forma selvagem (de origem) Cas codifica uma variedade de proteínas que estão envolvidas na resposta imune e que são homólogas de toxinas procarióticas (toxinas antitoxinas ou sistema de infecção abortiva) que costumeiramente possuem atividade de nucleasse, tal como a Cas2, que contém a proteína COG1517 (uma ribonuclease). Esta forte associação entre Cas e toxinas sugere que após a sua ativação, quando o sistema imune falha, poderia ativar um estado de dormência ou suicídio celular programado como mecanismo alternativo acoplado. A dormência permitiria aguardar uma melhor oportunidade futura para uma ação mais efetiva do sistema imune. Caso esta não surja e a imunidade falhe irreversivelmente, poderia desencadear a morte celular programada como mecanismo derradeiro. Tanto num caso como noutro, evitaria a propagação do ataque viral e protegeria outras bactérias ou archaea da colônia. A dormência seria processada por uma combinação de ação de Cas1 e Cas2, já o suicídio celular seria mediado possivelmente por Cas2, pelo aumento do nível de estresse genotóxico, situação em que a célula empregaria as toxinas associadas para a anulação de processos celulares chave, tipicamente a tradução.

Disto tudo que vimos até o momento, com efeito, CRISPR, um sistema imune adaptativo de procariontes, parece ser um desses casos de mecanismos evolutivos tipicamente Lamarckista que até o momento não tem sido amplamente reconhecidos (Koonin e Makarova, 2013; Silas *et al.*, 2016), e reconhecer não é um ato nem simples,

nem sem consequências; pode significar desafiar os fundamentos da evolução, como disse Dennett:

“O raciocínio adaptacionista [no sentido dado por Darwin e pelos neodarwinistas] não é opcional; ele é a alma da biologia evolutiva. Embora possa ser suplementado, e suas falhas consertadas, acho que deslocá-lo de sua posição central na biologia é imaginar não só a ruína do darwinismo como o colapso da bioquímica moderna e de todas as ciências da vida e da medicina”. (Dennett, 1998, p. 247, tradução nossa).

De toda forma, aprofundar estudos, seja para confirmar, seja para afastar as hipóteses evolutivas ora levantadas parece ter alguma relevância para o uso seguro da técnica CRISPR-Cas, tanto para fins de edição gênica como para uso como marcador molecular para estudo dos genomas, seja na pesquisa básica ou aplicada, seja na experimentação em humanos ou em qualquer outra espécie.

Feitas estas breves considerações, podemos concluir que ao menos quatro problemas se destacam: 1º que CRISPR, apesar da relativa precisão em nível genômico em comparação a outras técnicas de edição gênica, não é seletiva no nível do organismo como um todo, podendo atuar em todas as células que possam ser alcançadas pelo vetor utilizado; 2º ocasionalmente, a enzima Cas acaba cortando o genoma no lugar errado (*off-target*<sup>49</sup>), inclusive em regiões eventualmente muito distantes do alvo, podendo produzir efeitos imprevisíveis; 3º a incidência de mosaicismos, decorrentes de edições imprecisas também é um problema persistente, (Liang et al., 2015; Gaj et al., 2013; Zhang, 2015a) e 4º o sistema CRISPR-Cas não é totalmente conhecido nem na sua conformação, nem no seu funcionamento, nem no que se refere às interações internas de seus componentes, nem nos mecanismos subjacentes e há lacunas não suficientemente esclarecidas acerca dos seus mecanismos evolutivos. (Chakraborty et al., 2010; Koonin e Makarova, 2013).

### 2.1.3.2 Editores de base - BE

Em 2017 Liang e colaboradores publicaram artigo no qual informam que utilizaram uma nova formulação da ferramenta de edição gênica CRISPR-Cas9, a qual denominaram Editor de Base (BE) para correção da  $\beta$ -talassemia em células primárias

---

<sup>49</sup> Genomas grandes, como o humano, geralmente são compostos de múltiplas sequências de DNA que são idênticas ou altamente homólogas às sequências de DNA alvo mediado por CRISPR-Cas9. Este fato favorece a clivagem também nestas regiões. (Zhang, Wen e Guo, 2014).

humanas e embriões humanos, no gene HBB-28 (A> G). A ferramenta de edição foi empacotada em lentivírus usado para infectar células 293T que posteriormente foram selecionadas com puromicina. Relatam o resultado do experimento da seguinte maneira:

Notavelmente, a eficiência de correção do gene foi superior a 23,0% nestes embriões por editor base. Embora esses embriões ainda fossem mosaicos, o percentual de blastômeros reparados era superior a 20,0%. Além disso, descobrimos que as variantes do editor base, com a janela de deaminação estreitada, poderiam promover a conversão de G para A no local HBB-28 precisamente em embriões humanos, [...] Além disso, não encontramos nenhuma desvantagem fora do alvo nos 10 potenciais locais fora do alvo examinados para ambos os gRNAs, indicando alta especificidade. (Liang *et al.*, 2017, p. 812–814, tradução nossa).

Komor *et al.* (2016) haviam demonstrado anteriormente que seria possível gerar uma variante de CRISPR-Cas9, um complexo RNA-proteína, juntamente com citidina-desaminase para induzir clivagem de apenas uma das duas fitas da dupla fita de DNA para promover a correção de mutações em bases A-G ou C-T por HDR, com a vantagem de reduzir substancialmente os cortes fora do alvo (*off-target*) e com baixas taxas de indels nas variante BE2 e BE3. Este aperfeiçoamento da ferramenta CRISPR-Cas9 original tem sido estudada com expectativa para corrigir por exemplo doenças mitocondriais (vide Apêndice B), cuja incidência de mutações pontuais de bases A-G ou C-T é significativa e cuja amplitude da variabilidade dos limites de expressão gênica que configuram patogenicidade (conforme citamos no referido Apêndice) podem favorecer o desenvolvimento de terapias gênicas com sucesso. (Eid, Alshareef e Mahfouz, 2018). Metaforicamente, este mecanismo de edição gênica tem sido chamado de corretor de letras do DNA.

Em 2018 Zeng *et al.* (2018) promoveram a correção de uma mutação patogênica no gene FBN1T7498C, causadora da síndrome de Marfan, mediada pela variante BE3, para substituição da base C por T em células HEK293T retiradas de portador da síndrome e de embriões humanos produzidos em laboratório. Os pesquisadores consideraram os resultados obtidos promissores.

### 2.1.3.3 Avanços e perspectivas da pesquisa com CRISPR

Será que nossos filhos e netos levarão seu DNA para o conserto, como se faz hoje com o automóvel e a motocicleta? Futuras gerações encomendarão seu patrimônio hereditário pela Internet, como se pratica com bilhetes aéreos ou produtos de consumo? Que tal 1,80 m de altura, 60 kg de peso, traços

harmoniosos, força e agilidade de atleta, inteligência de Einstein, e nenhuma enfermidade genética? (Faintuch, 2015, p. 269).

Com efeito, o sistema CRISPR-Cas reúne em si um conjunto amplo de possibilidades de aplicação, tanto na pesquisa básica como aplicada, que se somam às vantagens comparativas às demais técnicas e lhe conferem um atrativo diferencial que anima pesquisadores, empresas, pacientes e até mesmo pessoas comuns (que eventualmente nem imaginam poder necessitar de algum de seus possíveis produtos) mundo afora. Além da pesquisa básica que utiliza a técnica como marcador molecular para estudo de genes e como ferramenta de edição, há estudos de aplicação em diversos campos que incluem o uso de CRISPR-Cas como ferramenta de diagnóstico, de terapia gênica e até mesmo de vacinas. (Chertow, 2018; Erp, van *et al.*, 2015; Lander, 2016). Matéria do *MIT Technology Review*, intitulada “*CRISPR in 2018: Coming to a Human Near You*” (Mullin, 2017), traz algumas das perspectivas do futuro imediato relacionado aos ensaios e testes clínicos que utilizam CRISPR para terapia gênica. Segundo a matéria, *CRISPR Therapeutics*, com sede em Cambridge, Massachusetts foi a primeira empresa a pedir permissão aos órgãos reguladores europeus para iniciar testes já em 2018 para  $\beta$ -talassemia e prepara pedido ao *Food and Drug Administration*-EUA (FDA) para iniciar um estudo para a doença falciforme neste mesmo ano, o que vem sendo acompanhado também pela Escola de Medicina da Universidade de Stanford, que também prepara vários ensaios e testes adicionais com CRISPR para doenças metabólicas, autoimunes e neurodegenerativas. A Universidade da Pensilvânia obteve permissão do *National Institutes of Health* e do FDA para ensaios clínicos para o tratamento de melanoma, sarcoma e mieloma múltiplo. Algumas empresas também pesquisam modificar as células T com CRISPR para tratar o câncer.

*Editas Medicina*, outra empresa sediada em Cambridge, Massachusetts, deve iniciar ensaio clínico de um tratamento à base de CRISPR para um tipo de cegueira hereditária e há expectativa de que a *Intellia Therapeutics* também avance nas aplicações clínicas com CRISPR. Isso sem falar da China que avança rapidamente em vários estudos, desde provas de princípio a ensaios clínicos. No endereço eletrônico <<http://clinicaltrials.gov>> existe um banco de dados de estudos clínicos realizados no mundo todo. Financiado pelo setor público (Biblioteca Nacional de Medicina dos EUA) e iniciativa privada, o site contém 283.303 estudos de pesquisa nas mais variadas áreas, em todos os 50 estados norte-americanos e em 204 países.

Também é possível adquirir informações de uma base de dados de acompanhamento de ensaios e testes de terapia celular, disponível no endereço <<http://celltrials.org>>. Curiosamente, a página “*About Cell Trials Data*” da empresa informa que no primeiro trimestre de 2018, 36% dos testes recém-registrados para terapia celular avançada não haviam sido informados em <<http://clinicaltrials.gov>>. (Mullin, 2017). Os primeiros ensaios clínicos aprovados para CRISPR-Cas9 e em andamento, segundo consta em <<http://clinicaltrials.gov>> são: NCT03081715, NCT03398967, NCT03166878, NCT02793856, NCT03044743, NCT03164135. (Kosicki, Tomberg e Bradley, 2018).

Aperfeiçoamentos, variantes e aplicações novas de CRISPR-Cas, são o cotidiano que povoa os periódicos especializados quase que diariamente. Nihongaki *et al.* (2015), desenvolveram sistema para aplicações industriais e médicas baseado em CRISPR associado a um gene denominado dCas9 ótico para fotoativação de genes alvo em células de mamíferos de modo rápido e reversível. Ficou demonstrado que a exposição destas células à luz não apenas ativa a expressão gênica, mas também que esta se amplia na mesma razão do tempo de exposição. (Nihongaki *et al.*, 2015).

No campo das vacinas, partindo do princípio de que o sistema CRISPR-Cas decorre do mecanismo de resposta inume bacteriano contra ataques de vírus bacteriófagos, pesquisadores estudam formas de integração de sequências do genoma viral sem homologia do HIV, HPV e EBV no genoma humano mediado por CRISPR-Cas para tratar este tipo de infecção. Experiências com ratos, utilizando adenovírus como vetores vem sendo feitas para inativação da proteína PCSK9, relacionada ao colesterol LDL, para prevenir doenças coronarianas. Uma plataforma iCRISPR, baseada nos sistemas CRISPR/Cas e TALENs vem sendo desenvolvida para interferência no processo de diferenciação em células hPSCs. (Khalili *et al.*, 2015; LaFontaine, Fathe e Smyth, 2015; Nabais, 2015; Vasileva *et al.*, 2015).

Transcorridos apenas seis anos desde que a técnica foi apresentada ao mundo, o amplo espectro de aplicações que podem ser desenvolvidas anima a ciência de uma maneira que vai muito além do que se viu até então:

A tecnologia CRISPR-Cas9, que está sendo amplamente adotada por acadêmicos e por organizações de pesquisa e desenvolvimento da indústria farmacêutica e de biotecnologia, oferece uma oportunidade única para a comunidade científica e médica traduzir essa ferramenta de edição genética para a terapêutica humana. Isso inclui terapia genética, por exemplo, corrigindo defeitos genéticos em células progenitoras em doenças genéticas devastadoras, e o desenvolvimento de CRISPR-Cas9 como tratamento

potencial para doenças crônicas, como câncer e HIV. (Charpentier, 2015, tradução nossa).

Mas se o meio científico vive um momento de grande animação por conta de CRISPR, ele não é o único. O surpreendente crescimento do setor tem mobilizado amplamente vários segmentos da sociedade em torno de algumas outras áreas subjacentes, em especial governança, segurança e regulamentação da pesquisa. A edição 531 da revista Nature de 10 de março 2016, publicou na seção “COMMENT”, interessante artigo intitulado “*Governance: Learn from DIY biologists*” (Governança: Aprenda com os biólogos DIY). (Kuiken, 2016). O subtítulo traz uma frase que não deixa margem à dúvida: “a comunidade científica-cidadã tem uma atitude proativa e responsável, bem adaptada à edição genética [...]” (“*The citizen-science community has a responsible, proactive attitude that is well suited to gene-editing [...]*”). O artigo define esta comunidade como “um grupo de pessoas com ou sem treinamento formal que busca a pesquisa como *hobby* ou para promover a aprendizagem social e a ciência aberta” (“*a group of people with or without formal training who pursue research either as a hobby or to foster societal learning and open science*”). (Kuiken, 2016, p. 167, tradução nossa). Há grupos formados no mundo todo, incluindo Estados Unidos, Reino Unido, Dinamarca, França, Alemanha e Irlanda, e possuem laboratórios comunitários para uso compartilhado.

O centro do debate da matéria situa-se no argumento de que o uso da ferramenta molecular CRISPR-Cas9 por estes grupos não deve suscitar temores por parte da sociedade ou da comunidade científica. Consta que, conforme falamos em outros momentos, os equipamentos e os insumos necessários para experimentos com CRISPR-Cas9 estão “prontamente disponíveis” para biólogos DIY (faça-você-mesmo) no mercado e cita como exemplo a “*International Genetically Engineered Machine*” (iGEM) de 2015, uma competição que reuniu alunos do ensino médio e usuários de laboratórios comunitários de todo o mundo.

Para projetar sistemas biológicos eles receberam kits de competição contendo plasmídeos com CRISPR-Cas9, com mais de 1.000 peças biológicas padrão, conhecidas como BioBricks (blocos de construção baseados em DNA). Diversos componentes e kits para o sistema CRISPR-Cas9 (incluindo vetores bacterianos, virais e plasmídeos) também estão disponíveis no registro do iGEM – “*International Genetically Engineered Machine Competition*” (“Competição internacional de máquinas geneticamente modificadas”) em <<http://parts.igem.org/CRISPR>>. No

cotidiano, biólogos DIY já vem usando ferramentas moleculares para montar fragmentos de DNA em bactérias e leveduras. Segundo o autor, é possível que nos próximos meses e anos CRISPR-Cas9 se torne mais popular ainda entre os biólogos DIY. No entanto, considera que não há motivos para se temer que esta comunidade possa provocar mais danos ao usá-la do que qualquer outra pessoa, embora reconheça que as normas da comunidade tenham pouco efeito sobre o comportamento de indivíduos desonestos que possam ter a intenção de causar danos ou prejuízos, mesmo porque, argumentam, estes poderiam estar em qualquer lugar, inclusive em laboratórios governamentais, universitários ou comerciais. Chama a atenção também a citação à iniciativa *crowdsourcing* do biólogo sintético Josiah Zayner, fundador do *Open Discovery Institute* em Burlingame, Califórnia, como um exemplo que não representaria os princípios de conduta da sua comunidade (disponível em <<http://DIYbio.org>>). A campanha promovida por Zayner arrecadou, em alguns meses, US\$ 62.000 para financiar a produção e distribuição de kits DIY CRISPR para ajudar as pessoas a “aprenderem ciência moderna fazendo”. A crítica colocada se situa na divulgação de um vídeo promocional onde são mostradas placas de Petri contendo amostras armazenadas na geladeira, ao lado de alimentos.

Se no campo da pesquisa o ambiente geral é de efervescência, conhecer o que se passa fora dos laboratórios, no imaginário das pessoas comuns, pode ser útil para se saber por onde e como aprofundar o necessário processo de diálogo ciência-sociedade que vem sendo apontado persistentemente, por diversos grupos de pesquisadores, como indispensável para mediar os limites éticos para o desenvolvimento da edição gênica mediada por CRISPR-Cas para os próximos anos.

Pesquisas realizadas com 196 estudantes brasileiros de graduação e pós-graduação, selecionados de uma amostra de 400 participantes, buscou captar se os mesmos percebiam problemas éticos significativos na edição do genoma humano, inclusive para fins de melhoramento, através da técnica CRISPR, e se a formação acadêmica interferia em suas opiniões. Os dados apontaram uma predominância da ausência de opinião entre aqueles com formação no nível da graduação. Por outro lado, entre os oriundos das áreas da saúde e das humanidades, 58.95% e 60%, respectivamente, percebem implicações éticas. (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

Blendon, Gorski e Benson (2016) analisaram 17 pesquisas de opinião, realizadas entre o público adulto norte-americano, nas últimas três décadas, que pretendiam captar o que as pessoas pensam sobre terapia gênica e edição de genes



em adultos e crianças, incluindo alteração de características genéticas em embriões humanos e em células germinativas.

Ficou claro que no geral, o público não está familiarizado com os conceitos correntemente utilizados no debate sobre edição de genes e apenas 31% informaram terem ouvido ou lido muito respeito, os outros 69% tiveram muito pouco ou nenhum contato com o tema. Apesar disso, os resultados apontam que as pessoas são favoráveis à terapia gênica para uso clínico em pacientes com doenças graves e a maioria não é favorável a edição em embriões humanos ou células germinativas. No entanto, o que mais chama a atenção não são os dados que somam maioria, mas o seu oposto: entre 34% a 44% aprovam a edição de genes para melhorar a inteligência, e entre 25% a 44% aprovam melhorias em características físicas ou na aparência. Muito embora para cada estudo existam variantes destes dados, é certo que uma parcela da população norte-americana, que não deve ser desconsiderada, se e quando puder, utilizará a edição gênica, inclusive em linhagem germinativa, para ter para si e seus descendentes um maior diferencial de aptidões físicas e psíquicas, que incluem habilidades, inteligência, memória, beleza, etc. (Blendon, Gorski e Benson, 2016).

Evidentemente que se trata apenas de amostra muito específica, que não representa necessariamente o conjunto da sociedade humana, mas será que em outros países o resultado seria muito diferente? E mais, será que eventual diferença, qualquer que seja, por si só seria importante, ou o dado mais importante é que existe uma parcela da população que parece ter um viés eugênico claro, ainda que possa não querer admiti-lo ou mesmo nem se dar conta disto. Além do mais, a lógica do que se revela nessas posições talvez seja a busca pela exceção, no sentido da vantagem competitiva, e não pela regra, no sentido da igualdade, e ela parece se coadunar com a ideia corrente de que na natureza o diferente recebe como prêmio a sobrevivência, aos demais sobraria a extinção.

Se na sociedade não há um consenso acerca das questões éticas envolvidas na edição gênica em linhagem somática e germinativa, no meio científico o debate que há décadas vem sendo travado se intensificou muito nos últimos anos em razão de CRISPR-Cas9. Diversas matérias de opinião e artigos tem sido publicados em periódicos especializados e revistas científicas conceituadas como Science e Nature (Cyranoski, 2015; Doudna, 2015b; Hayden, 2016) que ajudam a formar opinião, mas

que no entanto podem não ser suficientes. Vamos tratar mais amiúde desta questão mais adiante.

## 2.2 BIOSSEGURANÇA, BIOPROTEÇÃO E A EDIÇÃO DE GENES

Em geral, os pesquisadores veem essas lacunas como um preço menor a ser pago por uma técnica poderosa. Mas Doudna começou a ter preocupações mais sérias sobre segurança. Suas preocupações começaram em uma reunião em 2014, quando ela viu um trabalho de pós-doutorado presente em que um vírus foi projetado para transportar os componentes CRISPR em camundongos. Os ratos respiraram o vírus, permitindo que o sistema CRISPR desenvolvesse mutações e criasse um modelo para o câncer de pulmão humano [(Maddalo *et al.*, 2014)]. Doudna teve calafrios; um pequeno erro no projeto do RNA guia poderia resultar em um CRISPR que também funcionaria nos pulmões humanos. "Parecia incrivelmente assustador que você pudesse ter alunos que estavam trabalhando com uma coisa dessas", diz ela. (Ledford, 2015a, p. 21, tradução nossa).

O debate sobre biossegurança<sup>50</sup> e bioproteção é relativamente recente, no entanto a ocorrência de eventos significativos envolvendo agentes biológicos vem acompanhando nossa sociedade por séculos, seja como uma faceta trágica de epidemias e pandemias que devastaram populações ao longo da história, como foi o caso da Peste Negra que abordamos páginas atrás, seja como faceta dramática de conflitos locais e guerras, em que material biologicamente contaminado fora usado na tentativa de impingir baixas - inclusive em larga escala, tanto nas frentes de batalha como em populações civis de territórios inimigos -; seja como estratégia na disputa por território, riquezas e poder; seja como instrumento de repressão e extermínio de regimes de exceção, como foi o caso da ditadura civil-militar brasileira<sup>51</sup>. (Cardoso *et*

---

<sup>50</sup> Os termos biossegurança e biosseguridade, são empregados ora como sinônimos, ora como conceitos distintos, dependendo do país e dos autores que discutem o tema. (Cardoso e Cardoso, 2011; Cardoso *et al.*, 2008). Dada a divergência e considerando não ser nosso propósito adentrar neste debate, por mais relevante que seja, adotaremos as definições estabelecidas no art. 2º da Portaria Normativa Nº 585/MD, de 7 de março de 2013, emitida pelo Ministério da Defesa, que trata das Diretrizes de Biossegurança, Bioproteção e Defesa Biológica, (Ministério da Defesa - Brasil, 2013), vez que em geral se conformam aos demais instrumentos a que faremos referência ao longo da discussão.

<sup>51</sup> A Comissão Nacional da Verdade (CNV), através de grupo e trabalho específico, reuniu membros de diversas comissões estaduais, institucionais, antropólogos indigenistas e demais especialistas para a investigação sobre as graves violações perpetradas pelo regime civil-militar brasileiro instaurado a partir de 1964 contra povos indígenas e camponeses. A extensão, tanto territorial como temporal, bem como a amplitude e gravidade do que foi possível apurar foi de tal magnitude que ensejou um longo e detalhado estudo que compôs o Relatório Final da CNV. Parte deste estudo foi levado a termo pela Comissão Estadual da Verdade do Paraná Teresa Urban (CEV-PR). Para que se tenha um adequado entendimento dessas violações é importante considerar alguns aspectos, dos quais destacamos: 1º embora o processo de esbulho e agressões humanitárias contra povos indígenas no Brasil remonte à época da colonização e perdure por todos os séculos seguintes até os dias atuais, ficou claro que

al., 2008; Brasil, 2014a; Brasil, 2014b; Comissão Estadual da Verdade Teresa Urban, 2017; Guimarães, 2002).

---

durante a vigência do regime militar, a eliminação de tribos, algumas por completo, passou a ser uma política de estado implementada em franca aliança entre o governo - através de órgãos que deveriam proteger as comunidades indígenas, como o SPI (Serviço de Proteção ao Índio) e mais tarde a FUNAI (Fundação Nacional do Índio) -, e grandes corporações e empresas mineradoras internacionais, latifundiários e extrativistas de madeira, o que demandou a construção de estradas e usinas hidrelétricas necessárias para suportar tal modelo econômico de exploração das florestas e que via o índio como um obstáculo ao desenvolvimento. A partir daí organizou-se e se intensificou uma política de “higienização da mata” materializada em duas etapas: primeiro criava “vazios demográficos” pela eliminação da presença indígena e, segundo afirmava que não havia presença indígena na região de interesse, o que evitava a necessidade de ter que lidar a “inconveniente” presença de tais povos nativos; 2º os impactos destas violações atingem massivamente povos indígenas por toda a América Latina, vez que o modo de vida tradicional e de ocupação dos territórios indígenas não segue uma lógica de divisão sociopolítica dada pela conveniência da autodenominada “sociedade civilizada”; disto decorre que a presença dos mesmos nas matas e florestas transpassava territórios por toda a região, desde as fronteiras amazônicas com a Venezuela e Colômbia ao norte, ao longo de toda a costa oeste, incluindo Peru e Bolívia, até os países mais ao sul como Paraguai, Uruguai e Argentina; 3º parte significativa dos povos indígenas vivem em isolamento completo, de modo que os impactos devastadores dos primeiros contatos foram profundos e irreversíveis, sobretudo do ponto de vista da exposição a agentes infecciosos que, já se sabia desde há muito, seriam devastadores e exigiam cuidados de saúde e sanitários especiais para a não exposição destas comunidades indígenas a doenças para as quais não tinham nem resistência imunológica e nem medicamentos para o seu enfrentamento; 4º a contaminação de povos indígenas por agentes infecciosos não foi incidental, fortuita ou meramente irresponsável, revelou-se parte de uma estratégia intencional, singularmente perversa, que se somou ao uso de outras forças letais como armas, explosivos e agentes químicos que eram empregados conjuntamente por forças militares locais, nacionais e jagunços contratados por empresas para promover o deslocamento forçado ou extermínio de povos inteiros, prevalecendo o que fosse mais fácil e mais rápido. Um desses casos foi o povo Tapayuna (“Beijo-de-Pau”), do oeste Mato Grosso: “A morte da maior parte dos indígenas ocorreu por negligência do órgão indigenista oficial, que, em 1969, permitiu a participação de um jornalista gripado na expedição conduzida pelo sertanista João Américo Peret, não havendo a vacinação prévia necessária para situações de contato [...] Em 1971, o sertanista Antônio de Souza Campinas, junto com um Tapayuna do Xingu, foi enviado para buscar sobreviventes na antiga região onde localizavam-se os Tapayuna; lá foram encontrados somente ossos revirados por porcos selvagens [...] Entre os mortos, estava a noiva do cacique Tariri [...]”. (Brasil, 2014b, p. 221) Dentre as principais doenças disseminadas por militares, jagunços e funcionários do SPI e FUNAI estão a tuberculose, coqueluche, gripe, sarampo, poliomielite, malária, caxumba, tuberculose e doenças venéreas como a blenorragia e sífilis. No caso do povo Parakanã, por exemplo, entre 1971 e 1977, 118 indígenas, o equivalente a 59% da população original foi dizimada principalmente por blenorragia e pneumonia. Antes disso, em 1970 uma infecção gripal havia matado 40 pessoas. Durante a construção da rodovia Cuiabá-Santarém (BR 163), 176 membros do povo Panará (também conhecido como Krenakore), equivalente a 66% da sua população original, foi dizimada por epidemias. Ainda no curso daquela obra, aproximadamente 22% da população Yanomami de quatro aldeias foi eliminada por infecções e dois anos depois, mais da metade de outros quatro grupos morreram de sarampo. Na região do rio Apiaú, ainda em 1970, calcula-se que cerca de 80% dos Yanomami da região morrerão infectados. No vale do rio Ajarani, dos cerca de 400 indígenas que existiam em 1960, restaram apenas 79 indivíduos sobreviventes em 1975. Os inúmeros casos relatados, e que aqui trazemos apenas uma pequena amostra, impressionam, não apenas pelo número de vítimas, mas pela criminoso crueldade humanitária e antropológica que é pouco conhecida do grande público, mas que denota com clareza o uso de agentes biológicos para eliminação em larga escala de diversos povos indígenas, muito dos quais viviam em completo isolamento e não conheciam as doenças da quais foram vítimas. (Brasil, 2014b).

Quando se olha a histórias dos conflitos humanos ao longo dos séculos, o que fica evidente é que o uso de agentes biológicos como arma de guerra para impingir baixas e derrotas aos inimigos, sem compaixão inclusive para com a população civil, é a regra. Com efeito, o não uso de vírus, bactérias, fungos e outros microrganismos letais e toxinas é que parece ser a exceção. Neste sentido, os instrumentos internacionais como os que trataremos a seguir, que visam a proibição de agentes biológicos para fins não pacíficos, revelam apenas um esforço de se evitar a persistência da regra, mesmo porque até o início do século passado, este uso tinha uma natureza eminentemente oportunista, vez que se aproveitava o material contaminado disponível. Ao passo que a partir de então, o conhecimento científico passou a dar suporte para o uso militar de agentes biológicos como arma de extermínio em massa.

É com o desenvolvimento da biologia molecular e da genética, que se passou do oportunismo para a capacidade efetiva de fabricar bombas e até mísseis carregados de agentes biológicos letais cultivados em laboratório. Esta capacidade, conforme registram os estudos, foi levada a termo em projetos militares de vários países durante a 2ª Grande Guerra e parte da Guerra Fria que se seguiu, principalmente por parte de EUA e URSS. Mais tarde o conhecimento do DNA e o domínio das técnicas de edição gênica vieram a ampliar as possibilidades de uso não pacífico de agentes biológicos letais. Interessante notar que até antes do advento de CRISPR-Cas9, a capacidade de edição gênica para fins militares ou equivalentes estava restrita àqueles que dispunham de maiores de recursos, conhecimento, tempo e cientistas dispostos a levar a cabo um novo Projeto Manhattan. Relacionamos na Tabela 3 (vide também linha do tempo, Figura 4) os principais eventos registrados ao longo dos séculos em que se fez uso de agentes biológicos como arma de extermínio, no intuito de contextualizar e dar realidade a este debate. (Cardoso e Cardoso, 2011; Cardoso *et al.*, 2008; Cardoso e Vieira, 2015; Revista FAPESP, 2001; Silveira Prado e Pérez Amores, 2010).

Tabela 3 - Eventos históricos envolvendo uso de agentes biológicos como arma.

<b>Data</b>	<b>Evento</b>	<b>Local</b>	<b>Agente biológico</b>	<b>Vítimas</b>
<b>XV a.C</b>	Introdução deliberada de cepas de antraz, vitimando o próprio faraó. Este evento coincide com a quinta praga descrita na Bíblia	Egito	<i>Bacillus anthracis</i>	
<b>VI a.C.</b>	Assírios envenenam os poços inimigos com ergotamina, produzida pelo ergot de centeio		Ergot fúngico	
<b>1346</b>	Durante o cerco de Kaffa, a armada tártara joga seus mortos infectados com a peste sobre os muros da cidade	Criméia	<i>Yersinia Pestis</i>	
<b>1518</b>	Na conquista da América do Sul, o espanhol Francisco Pizarro enviava soldados e escravos contra os nativos com lanças contaminadas com varíola e ofereciam objetos contaminados aos mesmos. Com poucos soldados, derrotou o exército de Atahualpa com 80 mil soldados	México	<i>Orthopoxvirus</i>	
<b>1763 (1754-1767)</b>	Na colonização da América do Norte <sup>52</sup> , na guerra contra os franceses o general britânico Jeffrey Amherst enviou cobertores e lenços infectados com varíola para os índios Delaware que resistiam à invasão e eram aliados dos franceses	América do Norte	<i>Orthopoxvirus</i>	Tribos inteiras foram quase totalmente dizimadas
<b>1797</b>	Napoleão Bonaparte tentou forçar a rendição de Mantua (Itália) contaminando a população com a febre-do-pântano, que afeta equinos	Itália	Retrovírus	
<b>1914-1918 1ª guerra mundial</b>	Evidências de que os alemães utilizaram <i>Bacillus anthracis</i> e <i>Burkholderia mallei</i> para infectar o gado que seria exportado para a Rússia	Rússia	<i>Bacillus anthracis</i> e <i>Burkholderia mallei</i>	
<b>1932-1944</b>	Sob o comando do general Shiro Ishiim do Japão, uma unidade militar de nº 731 serviu de base para a criação de armas biológicas e experimentos com prisioneiros chineses. Esta unidade foi responsável por epidemias com <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Shigella sp.</i> , <i>B. anthracis</i> e <i>Y. pestis</i> em várias regiões da China. Pulgas contaminadas com <i>Y. pestis</i> foram dispersadas por aviões para	Manchúria-China	<i>Vibrio cholerae</i> , <i>Shigella sp.</i> , <i>B. anthracis</i> e <i>Y. pestis</i>	

<sup>52</sup> Segundo Silveira Prado e Pérez Amores (2010), numerosos relatos dão conta de que europeus conscientemente disseminavam varíola e sarampo entre os povos nativos do continente norte-americano quando comercializavam com os mesmos durante os séculos XVII e XVIII.

	produzir múltiplos surtos de peste na China			
<b>1939-1944</b> <b>2ª Grande Guerra</b>	Nos campos de concentração nazistas, presos foram contaminados com <i>Rickettsia prowazekii</i> , o vírus da hepatite A e o <i>Plasmodium sp</i> , para criar sulfonamidas e vacinas contra estas infecções	Alemanha	<i>Rickettsia prowazekii</i> , vírus da hepatite A e <i>Plasmodium sp</i>	
<b>1939-1944</b>	Rússia utiliza ratos infectados com tularemia contra as forças alemãs em Stalingrado, produzindo muitas baixas	Rússia	<i>Francisella tularensis</i>	
<b>≈ 1940</b>	Britânicos espalharam <i>B. anthracis</i> na ilha de Gruinard para prevenir a invasão de soldados nazistas em seu território. A ilha continua contaminada e inabitável até hoje	Ilha de Gruinard, a oeste da Escócia	<i>B. anthracis</i>	
<b>1942-1969</b>	EUA implementam programas para desenvolvimento de armas biológicas			
<b>1942</b>	EUA inicia a produção a produção de 5 mil bombas contendo esporos de <i>B. anthracis</i> em Fort Detrick	Maryland - EUA	<i>B. anthracis</i>	
<b>Guerra fria</b>	URSS, Canadá e Reino Unido implementam programas para desenvolvimento de armas biológicas			
<b>1979</b>	Escape de esporos na forma de aerossóis no sistema de ventilação de uma unidade militar russa	Sverdlovsk - Rússia	<i>B. anthracis</i>	Entre 66 e 69 mortes
<b>1984</b>	Seita liderada por Bhagwan Shree Rajneesh utilizou <i>Salmonella typhimurium</i> para contaminar bufês de salada, provocando gastroenterite	Oregon - EUA	<i>Salmonella typhimurium</i>	751 não letais
<b>1995</b>	Líder de uma seita religiosa, Aum Shinrikyo, promove ataque com gás Sarin no metrô de Tóquio. O grupo de Shinrikyo tinha a intenção de disseminar esporos de antraz e toxina botulínica, além do vírus ebola, obtido no Zaire	Tóquio - Japão		
<b>2001</b>	Disseminação do <i>Bacillus anthracis</i> pelo sistema postal	Atlanta - EUA	<i>B. anthracis</i>	23 casos 4 óbitos
<b>2003</b>	Na sala de correspondência do escritório do senador americano Bill Frist, foi encontrada ricina, em uma carta endereçada à Casa Branca	Carolina do Sul - EUA	Ricina	

Fonte: Cardoso e Cardoso (2011; Cardoso *et al.* (2008); Cardoso e Vieira (2015); Revista FAPESP (2001); Silveira Prado e Pérez Amores (2010).

Nota: a) existem divergências nos registros no que se refere às datas em que os eventos ocorreram e em relação à aspectos da descrição das ocorrências. b) nem todos os eventos registram o número de vítimas letais ou não letais.

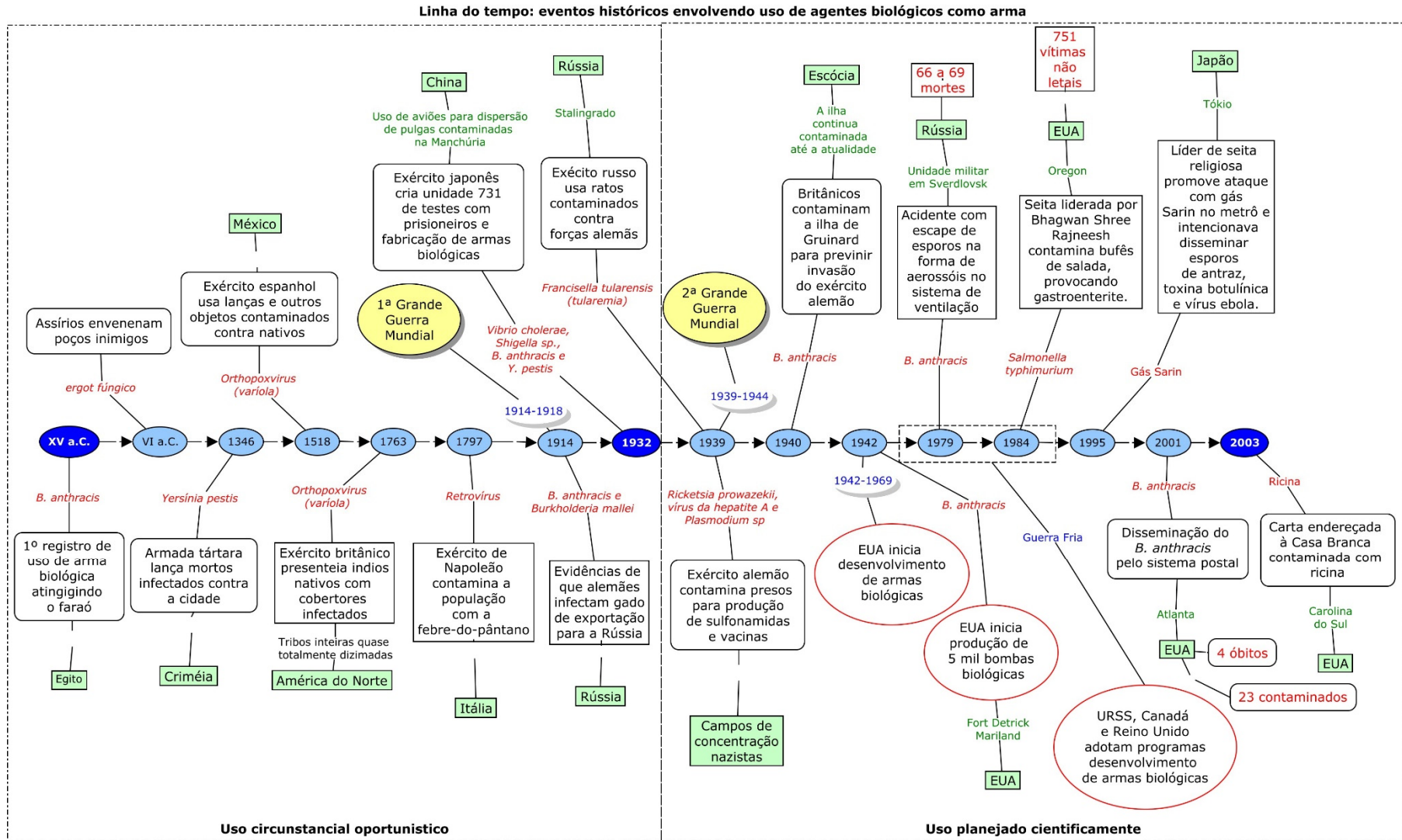


Figura 4 - Linha do tempo: eventos históricos envolvendo uso de agentes biológicos como arma  
 Fonte: baseado em Cardoso e Cardoso (2011; Cardoso *et al.* (2008); Cardoso e Vieira (2015); Revista FAPESP (2001); Silveira Prado e Pérez Amores (2010).

Este resgate histórico, embora incompleto, ajuda a vislumbrar o ânimo de nosso processo civilizatório. Neste sentido, podemos dizer que talvez o tema que mais tenha motivado o debate em torno da edição de genes, desde que a tecnologia do DNA recombinante surgiu, seja a preocupação com os impactos que a técnica possa ter sobre o futuro, a partir das experiências do passado. Em certa medida, poderíamos também dizer que esta preocupação se centra sobretudo em duas questões: 1º as implicações da edição em linha germinal humana e 2º a segurança no uso da técnica. As implicações no nível ambiental, que poderiam ou deveriam compor um terceiro elemento não são, a rigor, um fator consensual, apesar dos esforços internacionais que vem se intensificando desde o Protocolo de Kyoto e dos debates sobre mudanças climáticas, só para citar alguns exemplos. Mesmo porque, a pesquisa em linha germinativa em outras espécies que não a humana, sobretudo em organismos modelo, vem sendo feitas há décadas e parece que se intensificaram sobremaneira com o uso de CRISPR, basta ver a Tabela 2.

Data de 1864 a constituição da primeira *Convenção de Genebra para a Melhoria da Sorte dos Militares Feridos nos Exércitos em Campanha* e que marca o nascimento do *Direito Internacional Humanitário*. Revisada em 1929, ao final da 1ª Guerra Mundial e em 1949, após a 2ª Grande Guerra, foi a partir destas revisões que surge a proibição do uso de métodos bacteriológicos como instrumentos de guerra. O primeiro tratado multilateral de desarmamento que proíbe o desenvolvimento, produção e estocagem de armas biológicas ou à base de toxinas para extermínio em massa, denominado *Convenção sobre Armas Biológicas (Biological Weapons Convention - BWC<sup>53</sup>)*, organizado pela ONU através do *Escritório das Nações Unidas para Assuntos de Desarmamento (United Nations Office for Disarmament Affairs - UNODA)*, foi aberto a adesão dos países-parte em 1972 e passou a vigorar em 1975. (Barbosa, Lucas, 2010; Cardoso *et al.*, 2008; UNODA - ONU, 2018). Neste acordo os Estados-parte se comprometem a informar um conjunto de dados, dentre os quais os centros de pesquisa, laboratórios e programas nacionais de pesquisa e desenvolvimento de defesa biológica existente.

Outro aspecto que convém considerar diz respeito muito particularmente à novidade que vem com CRISPR-Cas. Se por um lado esta técnica representa uma

---

<sup>53</sup> Disponível em <<https://www.un.org/disarmament/wmd/bio/>>.



possibilidade altamente promissora do ponto de vista da democratização do acesso à tecnologia no nível da pesquisa, talvez até inusitada em termos de edição gênica – tanto pela facilidade de uso da técnica como pelo baixo custo envolvido no fazer ciência (como já dissemos em outros momentos) –, essa mesma potencialidade é também um grande desafio que Asilomar não tinha: naquela época a tecnologia do DNA recombinante era restrita a poucos cientistas e laboratórios de pesquisa. Já no caso de CRISPR, a técnica está disponível para pesquisadores e laboratórios no mundo todo, incluindo aqueles que não são pesquisadores institucionalizados, como os biólogos DIY – que mencionamos alguns parágrafos atrás –, o que torna muito mais difícil o seu controle. (Lacadena, 2017). Com efeito, a segurança no uso de CRISPR fora do ambiente institucionalizado parece se conformar exclusivamente ao voluntarismo individual para conhecer e observar as normas locais sobre edição de genes, biossegurança e bioproteção, bem como as condicionantes dos tratados e acordos internacionais. O mesmo se aplica a eventuais propostas de moratórias e recomendações éticas.

Aliás, a Conferência de Asilomar marca a primeira iniciativa em nível global da comunidade científica, ao menos em tese, de debater o tema biossegurança e construir um caminho consensual que pudesse orientar as pesquisas futuras dentro de limites éticos e de biossegurança aceitáveis, sem, no entanto, comprometer o desenvolvimento científico que se esperava alcançar com o domínio da manipulação do DNA.

Dito isto, é útil delimitarmos os conceitos sobre biossegurança e bioproteção. No caso brasileiro, estes conceitos estão previstos na Portaria Normativa nº 585/MD, de 7 de março de 2013, emitida pelo Ministério da Defesa e que trata das Diretrizes de Biossegurança, Bioproteção e Defesa Biológica, (Ministério da Defesa - Brasil, 2013). Consta no seu art. 2º, incisos III e IV:

III - Bioproteção (*biosecurity*): conjunto de ações que visam a minimizar o risco do uso indevido, roubo e/ou a liberação intencional de material com potencial risco à saúde humana, animal e vegetal;

IV - Biossegurança (*biosafety*): conjunto de ações destinadas a prevenir, controlar, reduzir ou eliminar riscos inerentes às atividades que possam, de forma não intencional, comprometer a saúde humana, animal, vegetal e o ambiente;

Interessante notar que antecedendo esses dois conceitos, consta um outro, “Bioconfiança”, que engloba em si o binômio “intenção” (vinculado a bioproteção) e “acidente” (vinculado a biossegurança):

II - Bioconfiança (*biosurety*): conjunto de sistemas e procedimentos para salvaguardar os agentes biológicos e toxinas contra furto, roubo, perda, desvio, acesso ou uso não autorizado, e garantir que todas essas ações sejam conduzidas de maneira segura e confiável, englobando nesse conceito a biossegurança, a bioproteção e os controles de pessoal e material;

No mesmo artigo da referida portaria consta ainda o conceito de “agente biológico”:

I - Agente Biológico: todo aquele que contenha informação genética e seja capaz de autorreprodução ou de se reproduzir em um sistema biológico. Inclui bactérias, fungos, vírus, clamídias, riquetsias, micoplasmas, príons, parasitos, linhagens celulares e outros organismos;

Com efeito, a referência ao mecanismo de reprodução, parece contemplar os mecanismos evolutivos de CRISPR, as transferências horizontais de pacotes inteiros CRISPR-Cas, inclusive os eventos de transferência de material genético via plasmídeos, só para citar alguns dos mecanismos que tratamos nos capítulos anteriores e no Apêndice B. Não iremos aprofundar essa discussão sobre a adequação das leis em relação ao conhecimento científico recente, vez que escapa ao nosso propósito. De toda forma, verificar se há um descompasso é necessário na medida em que, em geral as instituições costumam pautar suas ações mais nas normas do que no conhecimento.

Os conceitos acima se fundamentam, por força do próprio texto da lei, no princípio da “precaução” consignado no art. 1º da citada legislação: “[...] observância do princípio da precaução para a proteção do meio ambiente”, e no *Princípio 15 da Declaração do Rio sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento*, que é resgatado no art. 1º do *Protocolo de Cartagena sobre Biossegurança*<sup>54</sup>. (Brasil, 2006).

O Protocolo de Cartagena sobre Biossegurança da *Convenção sobre Diversidade Biológica*, no seu preâmbulo, traz algumas considerações de contexto interessantes sobre a velocidade dos avanços da biotecnologia e o seu potencial de

---

<sup>54</sup> O *Protocolo de Cartagena sobre Biossegurança* foi celebrado em Montreal em 29 de janeiro de 2000 e entrou em vigor em 11 de setembro de 2003. O Brasil depositou o instrumento de adesão junto à Secretaria Geral da ONU em 24 de novembro de 2003, e sua vigência em território nacional passou a ser adotada em 22 de fevereiro de 2004. (Brasil, 2006).

riscos e benefícios, sobre a importância da biodiversidade e as dificuldades dos países mais pobres para enfrentar os riscos envolvidos:

Ciente de que a biotecnologia moderna se desenvolve rapidamente e da crescente preocupação da sociedade sobre seus potenciais efeitos adversos sobre a diversidade biológica, levando também em consideração os riscos para a saúde humana,

Reconhecendo que a biotecnologia moderna oferece um potencial considerável para o bem-estar humano se for desenvolvida e utilizada com medidas de segurança adequadas para o meio ambiente e a saúde humana,

Reconhecendo também a importância crucial que têm para a humanidade os centros de origem e os centros de diversidade genética,

Levando em consideração os meios limitados de muitos países, especialmente os países em desenvolvimento, de fazer frente à natureza e dimensão dos riscos conhecidos e potenciais associados aos organismos vivos modificados. (Brasil, 2006).

Embora o Protocolo tenha sido firmado uma década antes do advento de CRISPR-Cas9, ele em certa medida antecipa questões do momento presente, ainda que pelo viés eminentemente mercantil do movimento transfronteiriço de organismos vivos, modificados pela biotecnologia moderna, que possam produzir efeitos adversos para a conservação e o uso sustentável da diversidade biológica (Brasil, 2006), que somente agora vão assumir contornos de importância e urgência. Apesar dessa antecipação efetivamente se aplicar a vários aspectos conceituais, ela não alcança a tecnologia da manipulação do DNA CRISPR-Cas9 da mesma maneira de país a país, a depender de suas legislações internas.

Tanto que a Comunidade Europeia, através da Corte de Justiça da União Europeia (Court of Justice of the European Union, 2018), no julgamento do caso C-528/16, publicou decisão para dirimir dúvida suscitada pela França sobre se organismos geneticamente modificados pelas novas biotecnologias como CRISPR, que não necessariamente envolvem a incorporação de material genético alienígena no seu próprio DNA, estariam obrigados às normas aplicadas aos transgênicos. Visto que trataremos desta questão mais adiante, por ora nos é suficiente apontar a divergência e a necessidade de que os temas biossegurança e bioproteção acompanhem *pari passu* a evolução do conhecimento. Curiosamente, o Anexo III do Protocolo de Cartagena sobre Biossegurança, ao tratar de avaliação de risco, diz o seguinte:

4. A falta de conhecimentos científicos ou de consenso científico não será necessariamente interpretada como indicativo de um nível determinado de risco, uma ausência de risco ou de um risco aceitável. (Brasil, 2006)

Se por um lado o texto não parece ajudar muito nem no conceito, nem na prática, por outro, ao menos indica que não se deve tomar decisões que envolvem riscos baseadas na falta de conhecimento, o que embora possa parecer óbvio, talvez seja uma advertência necessária. De toda forma, podemos dizer que discutir biossegurança e bioproteção significa discutir riscos de CRISPR-Cas sob pelo menos três perspectivas: 1º os riscos advindos da incompletude ou da falta do conhecimento, sobretudo numa área onde, como vimos, as dúvidas parecem suplantar as certezas, por mais impressionantes que estas possam ser; 2º os riscos inerentes ao processo de Pesquisa & Desenvolvimento, ao fazer ciência e ao laboratório; 3º os riscos para as espécies e para o meio ambiente, que possam advir dos produtos produzidos pela técnica, sejam eles intencionais, imprevistos ou indesejados, incluindo-se aí dos efeitos indiretos, secundários, sistêmicos e/ou tardios e que possam ser percebidos somente muitos anos mais tarde ou após gerações.

Em qualquer um dos casos, há que se levar em conta conjunto de fatores que os influenciam sobremaneira ou que os determinam. Nos ateremos a alguns deles, mesmo porque a eles já nos referimos: a) fatores relacionados à evolução, à biologia evolutiva e à epigenética; b) fatores relacionados a biologia e meio ambiente; c) fatores relacionados a biologia molecular e de populações; d) fatores relacionados à genética; e) fatores próprios da edição gênica em geral, independente da técnica e, por fim, f) os fatores específicos de CRISPR-Cas. Além disso, é oportuno lembrar também algumas determinantes que iremos tratar mais adiante: i) as determinantes jurídico-institucionais, donde decorrem os tratados internacionais, as leis e as normas; ii) as determinantes geopolíticas; iii) as determinantes econômicas e iv) as determinantes sociais em um mundo globalizado.

É sob essa perspectiva e levando em consideração esse conjunto de fatores que estamos a debater biossegurança e bioproteção. Aliás, convém assinalar que estes conceitos não se confundem com o termo “risco” da maneira que aqui adotamos, vez que este tem contornos mais amplos que não são alcançados pela institucionalidade que habitualmente é dada àqueles termos.

## 2.2.1 Classificação de riscos dos agentes biológicos e níveis de segurança em laboratórios de Pesquisa & Desenvolvimento

“Quanto tempo levará antes de alguém tentar isso em seres humanos?” Eu me perguntei em voz alta para meu marido no café da manhã no dia seguinte<sup>55</sup>. (Doudna, 2015a, p. 470, tradução nossa).

Desde logo, cumpre assinalar neste tópico três questões: 1º não faremos a distinção que se pretendeu dar e foi vencida no julgamento do caso C-528/16 perante Corte de Justiça da União Europeia (Court of Justice of the European Union, 2018) - que citamos anteriormente - entre organismos geneticamente modificados (OGM) por técnicas já consolidadas e albergadas na legislação vigente e os editados com novas tecnologias como CRISPR-Cas9. Mesmo porque, no geral essa distinção não altera a análise que estamos a fazer; 2º este tópico poderia estar posicionado depois daquele em que discutiremos regulação internacional, junto com acompanhamento das pesquisas de edição gênica. Optamos por mantê-lo aqui por ser intrinsecamente relacionado a biossegurança e bioproteção. Desta forma, revisitá-lo mais adiante pode ser útil, caso necessário e 3º este tópico suscita várias questões, das quais três nos são relevantes: i) as pesquisas em andamento estão em conformidade com esta classificação de riscos? ii) esta classificação de risco é suficiente para o devido enquadramento a que se propõe em face das questões que levantamos até aqui? iii) independente da resposta à segunda questão, como compatibilizar as pesquisas em andamento e futuras às normas decorrentes da classificação de riscos, sem comprometer o processo ímpar de democratização mobilizado por CRISPR?

Capalbo, embora se referindo em seu trabalho especificamente aos OGMs, faz algumas considerações interessante sobre perigos, riscos e biossegurança que

---

<sup>55</sup> Com essas palavras Jennifer Doudna, manifesta sua preocupação com o futuro a partir da notícia de que pesquisadores, usando esta técnica, haviam levado a termo experimento de edição de genes em macacos cynomolgus. - geneticamente esta espécie é tão próxima dos seres humanos que comumente são usados para estudo de doenças genéticas humanas (Niu *et al.*, 2014; Shen, 2014): “Os macacos desenvolvidos - através da implantação de embriões em mães de aluguel - levaram as mudanças genéticas na maioria das células, incluindo óvulos ou esperma. Isso significava que as alterações poderiam ser transmitidas às gerações futuras”. (Doudna, 2015a, p. 470, tradução nossa). Apenas dois anos separavam a descoberta desta técnica, considerada uma das mais importantes e revolucionárias da biotecnologia moderna, e este experimento. Pouco tempo depois pesquisadores chineses publicaram informação de que CRISPR-Cas9 havia sido usada para modificar os genomas de embriões humanos não viáveis.

ajudam a nossa reflexão, mesmo porque, como dissemos, não faremos distinção de OGMs e organismos editados com CRISPR-Cas:

Todos concordam que existem perigos em potencial e que há necessidade de regulamentação para que tais perigos sejam medidos de forma comparativa e adequada, visando decidir sobre seu risco. Entretanto não se pode esquecer que as decisões sobre Biossegurança terão que ser tomadas na ausência de um conhecimento completo sobre TODOS os efeitos benéficos e adversos que envolvem os OGM. E se houver algum risco, as medidas regulatórias devem permitir a decisão de como manejá-lo ou contê-lo. (Capalbo, 2006, p. 10).

A autora indica ainda as seguintes situações de risco a serem consideradas:

- Potencial de transferência de material genético (fluxo gênico)<sup>56</sup>;
- Instabilidade (fenotípica e genética);
- Patogenicidade, toxicidade, alergenicidade;
- Potencial de sobrevivência, estabelecimento e disseminação;
- Outros efeitos negativos sobre organismos não alvo da modificação genética. (Capalbo, 2006, p. 10).

Com efeito, no caso de CRISPR, as situações de risco acima elencadas podem suscitar especificidades próprias. Talvez pudéssemos acrescentar alguns dos elementos que tratamos nos blocos anteriores, como por exemplo as transferências horizontais de pacotes CRISPR-Cas via plasmídeos, as integrações provirais, as interações nos microbiomas e os *gene drives*, os eventos *off-target* e indels, entre outros.

A norma para a manipulação de agentes biológicos é baseada em um binômio, no qual de um lado tem-se a definição do risco que o organismo representa, baseado na Classe de Risco e de outro os requisitos de biossegurança requeridos para as instalações que os manuseiam para os diversos fins, incluindo-se protocolos e procedimentos baseados em Níveis de Biossegurança.

---

<sup>56</sup> A Revista Evolução, Ciência e Sociedade da Sociedade Brasileira de Genética, ao tratar de “Introduções não planejadas” argumenta que: “Muitas das nossas pragas mais sérias, incluindo ervas daninhas, insetos, os dinoflagelados das marés vermelhas e o molusco *Dreissena polymorpha* (*zebra mussel*), causam os danos de maior monta em regiões nas quais não são nativos. O Departamento de Agricultura dos EUA instituiu procedimentos de quarentena, com o intuito de prevenir tais introduções. O advento da engenharia genética despertou preocupações quanto à evasão de microrganismos, plantas, peixes ou outros organismos vigorosos e geneticamente novos e quanto à possibilidade de genes para novas capacidades se propagarem por hibridização entre organismos transgênicos e selvagens, transformando espécies benignas em novas pragas. Os biólogos que se dedicam ao estudo da Evolução vêm determinando ativamente esses riscos. Estudos sobre o fluxo gênico inter e intra-específico, bem como avaliações dos efeitos dos genes sobre o valor adaptativo devem complementar os estudos ecológicos dos organismos relevantes, se quisermos prever os possíveis efeitos não propositais da liberação de transgênicos”. (Rutgers, 2002, p. 46–47).

A classificação de riscos dos agentes biológicos brasileira<sup>57</sup> segue um padrão internacional comum, com adaptações de variáveis decorrentes das especificidades epidemiológicas regionais. Destinada principalmente a profissionais que manipulam agentes biológicos em instituições de ensino, pesquisa e estabelecimentos de saúde, observa a estimativa do risco, no qual se inclui o “dimensionamento da estrutura para a contenção e a tomada de decisão para o gerenciamento dos riscos”. (Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, 2010, p. 11). A Comissão de Biossegurança em Saúde - CBS registra uma importante distinção entre os termos risco e perigo:

[...] perigo pode ser definido como qualquer componente químico, físico ou biológico que cause efeito adverso à saúde humana, animal e ambiental. Por sua vez, risco é a probabilidade de ocorrência de um efeito adverso em decorrência da exposição ao perigo. (Ministério da Saúde, 2010, p. 11).

Os principais parâmetros e critérios para avaliação de risco apontadas pela CBS são os explicitados nas Tabela 12 e 13, Apêndice D, dos quais destacam-se aqueles relacionados ao agente biológico, hospedeiro, virulência, modo de propagação, patogenicidade, profilaxia e profissionais vinculados aos laboratórios destinados à manipulação dos mesmos.

A partir destes critérios de riscos, os agentes biológicos são enquadrados em quatro Classes de Riscos progressivamente maiores, começando por 1 e terminando em 4, o maior grau, em conformidade com as normas da CBS e no caso dos OGMs, as normas da CTNBio, conforme Tabela 14, Apêndice D, na qual apresentamos as equivalências

Na referida publicação da CBS consta longa relação dos agentes biológicos considerados mais relevantes para as condições epidemiológicas, sanitárias e ambientais brasileiras. Alguns como *Yersinia pestis*, *Staphylococcus aureus*, *S. pyogenes*, *N. meningitidis* estão nessa relação e são utilizados em pesquisas com CRISPR, conforme citamos anteriormente. O primeiro é classificado como de Classe de Risco 3, os demais como *Classe de Risco 1*. Pertencem à Classe de Risco 4 o vírus *Ebola*, o grupo do *Herpes vírus*, o *Crimean Congo Hemorrhagic Fever Vírus*,

---

<sup>57</sup> No Brasil, a Comissão de Biossegurança em Saúde (CBS), vinculada ao Ministério da Saúde, é que tem a atribuição de “participar e acompanhar, nos âmbitos nacional e internacional, da elaboração e da reformulação de normas de Biossegurança” - Portaria nº 343, MS, 19.02.02. A publicação atualizada da norma “Classificação de Risco dos Agentes Biológicos” está disponível em <<http://www.saude.gov.br/editora>>. (Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, 2010).

*Poxvirus* e o *vírus da Varíola*. (Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, 2010)

O termo contenção é recorrente e especifica os procedimentos de biossegurança requeridos na manipulação de agentes biológicos de acordo com a sua classificação de risco e tem dois níveis: primária e secundária. O objetivo da contenção é prevenir, reduzir ou eliminar a exposição de profissionais, de usuários do sistema de saúde, da população em geral e do ambiente aos agentes potencialmente perigosos. A contenção primária está afeta à proteção das pessoas, em especial os profissionais envolvidos, já a secundária se relaciona à proteção ao meio ambiente. (Ministério da Saúde, 2010).

Embora habitualmente a Classe de Risco e o nível de biossegurança (NB) possam ser correlacionados de maneira direta, por exemplo: Classe de Risco 2 – NB-2; situações específicas podem exigir graus de contenção, portanto NB, mais ou menos rígidas. Agentes biológicos exóticos não existentes no Brasil com risco zoonótico devem ser manipulados em NB4, que é o maior nível de biossegurança. Nos casos de manipulação de agentes biológicos que tenham sofrido modificação genética deve-se ainda observar as Resoluções Normativas da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), em especial a Resolução Normativa nº 02, de 27 de novembro de 2006, que “dispõe sobre a classificação de riscos de Organismos Geneticamente Modificados (OGM) e os níveis de biossegurança a serem aplicados nas atividades e projetos com OGM e seus derivados em contenção”, vide Tabela 12, Apêndice D. Para estes microrganismos, existem desafios adicionais a serem ponderados referentes aos tipos, subtipos e variantes dos patógenos que envolvem: “vetores diferentes ou raros; a dificuldade de avaliar as medidas de seu potencial de amplificação, e as considerações das recombinações genéticas e dos organismos geneticamente modificados (OGMs)” (CTNBio - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança, 2006, p. 12) devem ser levados em conta para a sua manipulação segura. (Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, 2010).

Além disso, recomenda a norma, em consonância com os padrões internacionais, que a avaliação de risco:

[...] deverá contemplar as várias dimensões que envolvem a questão, sejam elas relativas a procedimentos (boas práticas: padrões e especiais), a infraestrutura (desenho, instalações físicas e equipamentos de proteção) ou a capacitação e qualificação das equipes. A organização do trabalho e as práticas gerenciais também passaram a ser reconhecidas como importante



foco de análise, seja como causadoras de acidentes, doenças e desconforto, ou como integrantes fundamentais de um programa de Biossegurança nas instituições. (Ministério da Saúde, 2010, p. 11).

Usualmente, e na ausência de uma regulamentação específica, os mesmos níveis de biossegurança exigidos para instalações de pesquisa destinadas a manipulação de OGMs têm sido aplicados no caso de CRISPR. Apresentamos no Apêndice E, nas Tabelas 15 a 18, os principais requisitos das mesmas, organizados por NB-1, NB-2, NB-3 e NB-4.

No diz respeito a caracterização dos agentes biológicos geneticamente editados, a norma ainda estabelece no art. 3º da Resolução Normativa nº 02, de 27/11/2006 da CTNBio, a seguinte classificação segundo a relação territorial dos mesmos com ecossistemas locais e segundo a função de cada organismo manipulado:

VII - Espécie exótica – aquela que se encontra fora de sua área de ocorrência natural;

VIII - Espécie exótica invasora – toda espécie que, quando fora de sua área de ocorrência natural, ameaça ecossistemas, habitats ou espécies;

IX - Espécie invasora – é aquela que ameaça ecossistemas, habitats ou espécies;

XVI - Organismo doador – organismo doador da sequência de DNA/RNA que será introduzida por engenharia genética no organismo receptor;

XVII - Organismo receptor – organismo no qual será inserida a construção obtida por engenharia genética;

XXIII - Vetor – agente carreador do inserto. (CTNBio - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança, 2006).

Iremos discutir mais adiante a conformidade, a adequação e oportunidade do enquadramento ou não dos vetores e organismos editados, em especial com CRISPR, como espécimes exóticos, mesmo que de origem possam não o ser. Por ora nos basta assinalar a relevância do tema.

A norma ainda define os parâmetros que devem nortear os critérios de classificação de risco em função do potencial patogênico dos organismos doador e receptor, baseado na sequência(s) nucleotídea(s) transferida(s) e na expressão das mesmas no organismo receptor, fazendo menção no entanto, explicitamente a OGMs, vide Tabela 12, Apêndice D. Disto decorre uma aparente dificuldade de se aplicar tais parâmetros para todas as situações de manipulação de genes com CRISPR, vez que nem sempre envolve a transferência de material genético, caso típico do *knockout*

gênico, por exemplo. Apesar disso, uma das condicionantes, ao menos em parte, oferece um caminho para acomodar CRISPR na norma, ao se referir a: “Organismos geneticamente modificados que sejam vetores biológicos de agentes causadores de agravos à saúde do homem, dos animais, dos vegetais ou ao meio ambiente”, Resolução Normativa nº 02, de 27/11/2006 da CTNBio. (CTNBio - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança, 2006).

Outro requisito constante da norma é a obrigatoriedade de rastreabilidade: “Art. 7º [...] § 2º. Todo organismo geneticamente modificado deverá possuir um marcador capaz de identificá-lo dentre uma população da mesma espécie”.

Do conjunto das normas acima relacionadas, fica latente que há um conjunto substantivo de requisitos e condicionantes para o manuseio de agentes biológicos, em especial aqueles com potencial patogênico ou deletério ao meio ambiente. Para além das normas, empresas como a ADDGENE disponibilizam interessante material de apoio para pesquisadores que planejam experimentos com CRISPR, indicando boas práticas em laboratório, níveis de biossegurança e biocontenção recomendáveis para várias situações, tipos de organismos manipuláveis e vetores:

[...] queremos ter certeza de que você está ciente de possíveis problemas de segurança. Estes incluem preocupações de biossegurança, bem como preocupações de biocontenção para pesquisadores que trabalham com organismos modelo altamente móveis como *Drosophila*. Esta seção fornece informações básicas para ajudá-lo a usar CRISPR com segurança, mas não se esqueça de entrar em contato com o Comitê de Biossegurança da sua instituição antes de começar a trabalhar.

[...] Os vetores lentivirais são manipulados nos níveis de segurança BSL-2/2+.

[...] Os vetores retrovirais são classificados com base nos tipos de células que infectam; vetores que podem infectar células humanas são manipulados em BSL-2/2+, enquanto outros vetores podem ser manipulados em BSL-1 dependendo do(s) gene(s) alvo(s).

[...] Uma vez que o AAV é incompetente para replicação e não é conhecido por causar doença em humanos, é normalmente tratado na BSL-1, desde que o(s) gRNA(s) utilizado(s) não possuam efeitos oncogênicos, apoptóticos ou tóxicos potenciais. Por favor note, se você usar um vírus auxiliar em vez de um sistema de plasmídeo auxiliar para entregar sua carga AAV, seu trabalho deve ser feito em condições BSL-2.

[...] Como CRISPR é um sistema de edição tão robusto, os cientistas precisam ser mais cautelosos ao projetar experimentos para evitar a possibilidade de “auto-edição acidental do pesquisador”.

[...] O método usado para entregar Cas9 e gRNA(s) também pode afetar o risco de biossegurança. [...] A administração baseada na inalação apresenta um risco maior, uma vez que é mais difícil conter as partículas virais.

[...] a questão do "o quê" que você está tentando editar costuma ser tão importante quanto "como". O trabalho voltado para genes supressores de tumor ou oncogênicos, como o P53 ou o KRAS, garante um alto nível de prudência. A introdução de alelos de doenças humanas em organismos modelo também apresenta risco, especialmente se a sequência alvo de gRNA for conservada em humanos. Em geral, qualquer edição que promova oncogênese ou apoptose, ou pode ser potencialmente tóxica, deve ser cuidadosamente projetada para maximizar a biossegurança e minimizar o risco do pesquisador". (Gearing, 2016, p. 180, tradução nossa).

A norma trata ainda "dos níveis de biossegurança em grande escala", "das instalações físicas e procedimentos em contenção para atividades e projetos com vegetais geneticamente modificados" e "das instalações físicas e procedimentos em contenção para atividades e projetos com vegetais geneticamente modificados", temas que deixaremos de abordar, apesar da relevância, por avançarem para além do escopo de nosso trabalho. (CTNBio - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança, 2006).

### **2.2.2 Ciência e sociedade: em busca de um caminho seguro**

Com os primeiros trabalhos aparecendo na literatura que descreve a engenharia CRISPR-Cas9 de células reprodutivas humanas, estamos em um novo momento de Asilomar? (Bosley *et al.*, 2015, tradução nossa).

A pesquisa genética tem essa característica peculiar de conseguir estabelecer uma relação bipolar e ambígua com a sociedade, que é incomum para a maioria das demais áreas do conhecimento. Foi assim com o movimento eugênico do século passado, com o PGH, com a tecnologia do DNA recombinante e agora com CRISPR-Cas9. Em parte, talvez seja porque mobiliza o imaginário coletivo em torno de um vórtice dualista de questões fundamentais da existência humana, como a cura de todas as enfermidades, a perfeição e a imortalidade, mas também o temor por uma eugenia segregadora, dos supervírus, das pandemias avassaladoras e da ameaça de extinção por uma superbactéria. Em parte, talvez seja também porque, como um "buraco de minhoca" da física, parece dobrar o tempo-espaço e trazer o futuro para o horizonte imediato do presente, ainda que, no caso da engenharia genética, a maior parte dos benefícios sejam muito mais uma ilusão do que uma realidade, ao menos no horizonte próximo.

Com efeito, não raras vezes a ciência promete muito mais do que pode entregar. O fato é que CRISPR parece ser uma dessas promessas com mais chances de entregar algo real e concreto para a sociedade, num espaço de tempo alcançável

pelas nossas limitadas existências. Isso por si só já seria um grande fator mobilizador, mas além disso, questões como a impressionante quantidade e velocidade com que se desenvolvem as pesquisas em andamento no mundo todo, em muitas frentes diferentes, incluindo testes clínicos em terapia gênica e controversos trabalhos com embriões humanos, *gene drives*, mutações fora do alvo, premiações, disputas milionárias de patentes, etc., acabam se transformando em ingredientes de uma tempestade entre o bem e o mal, entre a esperança e o temor, com potencial para produzir um interessante canal de mobilização e diálogo entre cientistas e sociedade, raras vezes visto. Veremos a seguir alguns dos acontecimentos que evidenciam esta tormenta e que ao mesmo tempo indicam caminhos.

Um desses acontecimentos recentes que chamou a atenção foi julgamento do caso C-528/16 pela Corte de Justiça da União Europeia (Court of Justice of the European Union, 2018), que mencionamos rapidamente algumas páginas atrás e que trataremos alguns aspectos aqui e também mais à frente. O processo mobilizou pequenos agricultores, ambientalistas e boa parte da sociedade civil, indústria, o agronegócio, o governo francês e cientistas, num embate para decidir se biotecnologias como CRISPR se enquadram nas regras dos OGMs ou não. No fundo, a discussão girou em torno de se saber se a técnica representa ou não uma ameaça ao ser humano e ao meio ambiente, e portanto, deveria ser submetido a regras rígidas de biossegurança e bioproteção, ou se, como defendiam alguns, essas técnicas são apenas uma maneira de reproduzir processos biológicos naturais que vem acontecendo a milhões de anos na natureza, como forma de “ajudar” a evolução, e portanto não deveriam ser submetidas ao rigor imposto aos OGMs. No texto da relatora Petra De Sutter, submetido à análise da Assembleia Parlamentar do Conselho da Europa, intitulado: “O uso de novas tecnologias genéticas em seres humanos” (“*The use of new genetic technologies in human beings*”), consta interessante menção à conferência de Asilomar, que soa como chamamento e ao mesmo tempo um alerta:

A Conferência de Asilomar sobre DNA recombinante, realizada na Califórnia em 1975, e liderada pelos Estados Unidos, discutiu riscos biológicos potenciais, bem como possíveis regulamentações. Foi a primeira vez que os perigos genéticos foram trazidos para a arena, para o debate público. Na ocasião, a Conferência concentrou-se no estudo dos riscos biológicos e fez recomendações sobre a necessária contenção de pesquisas sobre DNA híbrido - mas essas recomendações foram feitas sem uma prévia avaliação política, independente, pluridisciplinar, equilibrada e transparente, que teria sido desejável. (Sutter, 2017, p. 9, tradução nossa).

Antes disso, em março de 2015 a *Technology Review*, ligada ao MIT-Instituto de Tecnologia de Massachusetts, ecoou editorial da revista científica *Nature*, assinada por cientistas e executivos ligados a um grupo da indústria de biotecnologia - Edward Lanphier e Fyodor Urnov, Sarah Ehlen Haecker, Michael Werner e Joanna Smolenski<sup>58</sup> – com o seguinte título: “Indústria pede moratória para a edição genética”. Em destaque aparece a seguinte frase: “Empresas de edição genética dizem que pesquisa sobre a alteração do DNA de células reprodutivas humanas é perigoso e antiético”. A matéria original da revista *Nature* foi publicada com o título: “Não edite a linhagem germinativa humana - As modificações genéticas hereditárias humanas representam sérios riscos, e os benefícios terapêuticos são tênues, alertam Edward Lanphier, Fyodor Urnov e colegas” (“*Don’t edit the human germ line - Heritable human genetic modifications pose serious risks, and the therapeutic benefits are tenuous, warn Edward Lanphier, Fyodor Urnov and colleagues*”). Embora de partida os autores estabeleçam que há uma diferença fundamental entre edição em linhagem somática de edição em linhagem germinativa (tema controverso sobre o qual discutimos vários aspectos), alerta sobre os perigos dos efeitos imprevisíveis no uso de CRISPR-Cas9, tais como dificuldade de controlar quantas células seriam editadas, as edições *off-target*, o mosaicismo, os efeitos tardios e transgeracionais e a dificuldade de prevê-los e acompanhá-los. Este manifesto é singularmente importante porque motivou a que especialistas de várias áreas diferentes refletissem e se posicionassem sobre o tema. Embora controverso em alguns dos argumentos apresentados, o chamamento amplo para o debate, envolvendo a comunidade científica internacional, a academia e o público em geral, somado a apresentação de uma proposta de moratória para pesquisas em linhagem germinativa humana, sem dúvida foi importante e cumpriu o seu propósito. (Lanphier *et al.*, 2015, tradução nossa; Regalado, 2015, tradução nossa).

Em maio de 2015 a revista *Nature Biotechnology* publicou matéria intitulada “Engenharia germinativa CRISPR - a comunidade fala” (“*CRISPR germline*

---

<sup>58</sup> Consta na revista *Nature* a seguinte qualificação dos autores da matéria original publicada: “Edward Lanphier é presidente e diretor executivo da *Sangamo BioSciences* em Richmond, Califórnia, EUA, e presidente da *Alliance for Regenerative Medicine* em Washington DC, EUA. Fyodor Urnov é cientista sênior da *Sangamo BioSciences* em Richmond, Califórnia, EUA. Sarah Ehlen Haecker é diretora de seções de tecnologia da *Alliance for Regenerative Medicine*, em Washington DC, EUA. Michael Werner é diretor executivo da *Alliance for Regenerative Medicine*, em Washington DC, EUA. Joanna Smolenski é doutoranda em filosofia no Centro de Pós-Graduação da Universidade da Cidade de Nova York, Nova York, EUA”. (Lanphier *et al.*, 2015, tradução nossa).

*engineering - the community speaks*”), em que foram ouvidas personalidades de várias regiões do mundo sobre as questões éticas no uso de CRISPR-Cas9 em linha germinativa humana, a saber: Katrine S. Bosley, Michael Botchan, Annelien L. Bredenoord, Dana Carroll, R. Alta Charo, Emmanuelle Charpentier, Ron Cohen, Jacob Corn, Jennifer Doudna, Guoping Feng, Henry T. Greely, Rosario Isasi, Weihzi Ji, Jin-Soo Kim, Bartha Knoppers, Edward Lanphier, Jinsong Li, Robin Lovell-Badge, G. Steven Martin, Jonathan Moreno, Luigi Naldini, Martin Pera, Anthony C.F. Perry, J. Craig Venter, Feng Zhang e Qi Zhou. Uma das perguntas feita a todos e que chama a atenção foi a seguinte:

É possível ter uma resolução do tipo Asilomar hoje, dadas as questões em torno da engenharia CRISPR na linha germinativa, a natureza internacional da pesquisa, a facilidade de uso da tecnologia e o surgimento da biologia de "garagem" fora dos centros tradicionais? (Bosley *et al.*, 2015, p. 483, tradução nossa).

A resposta, afora a idiossincrasia contida em algumas delas, suscita uma reflexão ímpar. Registramos quatro delas:

Moreno: Há uma tendência quase reflexiva de pensar em Asilomar, mas Asilomar tornou-se para a biologia o que Woodstock se tornou para a cultura jovem - uma mitologia que cresceu, mas que obscurece o quão enlameado o evento em si era na época. (Bosley *et al.*, 2015, p. 483, tradução nossa).

Kim: Eu sou cético sobre uma resolução do tipo Asilomar. Várias décadas atrás, a tecnologia do DNA recombinante estava disponível para um número limitado de laboratórios nos Estados Unidos. Agora, a edição do genoma CRISPR é amplamente utilizada em todo o mundo. CRISPR democratizou a edição do genoma. A edição do genoma da linhagem germinativa humana não pode ser realizada em uma garagem porque é ilegal obter e manipular óvulos humanos na maioria dos países desenvolvidos. (Bosley *et al.*, 2015, p. 483, tradução nossa).

Bosley: [...] de fato, dada a natureza internacional da pesquisa e a facilidade de usar a tecnologia, isso pode importar ainda mais do que em 1975. [...] Mas como os biólogos de "garagem", por exemplo, podem também fazer parte da liderança nessa questão? (Bosley *et al.*, 2015, p. 483–484, tradução nossa).

Venter: Uma conferência do tipo Asilomar ou equivalente fará com que algumas pessoas se sintam melhor, ao mesmo tempo em que amplia a ilusão de que elas podem influenciar as aplicações de uma tecnologia simplesmente aplicada a uma necessidade humana fundamental. Somente aumentando muito a nossa compreensão do genoma humano, das relações genótipo-fenótipo e das consequências de fazer mudanças é que teremos o conhecimento para tomar decisões sábias. Até então, a edição do genoma humano deveria ser considerada como experimentação humana aleatória. Devemos afastar o inevitável, enquanto for possível ganhar tempo para reunir o conhecimento e a sabedoria para nos permitir avançar em benefício de nossa espécie. (Bosley *et al.*, 2015, p. 484, tradução nossa).

Em dezembro de 2015, o *Organizing Committee for the International Summit on Human Gene Editing* (“Comitê Organizador da Cúpula Internacional sobre Edição de Genes Humanos”) publicou um manifesto no site da *The National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine* (“Academias Nacionais de Ciências, Engenharia e Medicina”) sob o título *On Human Gene Editing: International Summit Statement* (“Sobre a edição de genes humano: Declaração da Cúpula Internacional”) no qual reforça os riscos apontados na publicação da Nature e inclui outras: as edições *off-target*; o mosaicismo; a dificuldade de prever efeitos prejudiciais sobre a ampla variabilidade dos organismos humanos; as possíveis interações prejudiciais que possam ocorrer com outras variantes genéticas e com o meio ambiente; que as alterações genéticas introduzidas na população humana dificilmente poderão ser removidas ou contidas dentro de uma comunidade ou país e, por fim, que edições gênicas com vistas ao “aprimoramento” em parcelas da população podem acentuar desigualdades sociais ou serem usadas coercitivamente. Concluiu o manifesto que os problemas de segurança não foram ainda superados e que os benefícios apresentados são ainda muito limitados, e conclama a *U.S. National Academy of Sciences*, a *U.S. National Academy of Medicine*, a *Royal Society* e a *Chinese Academy of Sciences* “para assumirem a liderança na criação de um fórum internacional para discutir possíveis usos clínicos da edição genética; [...] formular recomendações e diretrizes; e promover a coordenação entre as nações”. Assinam o manifesto David Baltimore, Françoise Baylis, Paul Berg, George Q. Daley, Jennifer A. Doudna, Eric S. Lander, Robin Lovell-Badge, Pilar Ossorio, Duanqing Pei, Adrian Thrasher, Ernst-Ludwig Winnacker, Qi Zhou. (Baltimore, Baylis, *et al.*, 2015).

Entre críticas positivas e nem tanto acerca da Conferência de Asilomar, como as que vimos anteriormente, a ponderação de Lacadena ecoa como um chamamento e um alerta:

Esta moratória voluntária proposta pelos próprios cientistas representa um caso pioneiro na história da ética da ciência. Se os cientistas envolvidos no Projeto Manhattan, que terminou com a construção da bomba atômica, tivessem tido sua “conferência de Asilomar”, a destruição e as mortes de Hiroshima e Nagasaki não teriam ocorrido. (Lacadena, 2017, p. 18, tradução nossa).

A proposta da Cúpula Internacional sobre Edição de Genes Humanos acabou acontecendo ainda em dezembro daquele mesmo ano, organizado pela Academia Nacional de Ciências e Medicina dos Estados Unidos, pela Royal Society de Londres

e pela Academia Chinesa de Ciências. Reardon registra que: “quarenta anos depois [de Asilomar], foi preciso um grupo muito mais diversificado para chegar a um acordo muito menos definitivo: uma recomendação para não impedir totalmente a pesquisa de edição de genes humanos, mas abster-se de pesquisas e aplicações que usem embriões humanos modificados para promover uma gravidez”. (Reardon, 2015, p. 173, tradução nossa).

Nesse meio tempo, diversos pesquisadores publicaram artigos de opinião e científicos nos quais considerações éticas são ponderadas. Em geral elas convergem na mesma direção pela necessidade do debate acerca dos riscos envolvidos no uso da técnica CRISPR-Cas9, das implicações éticas dela decorrentes e da separação entre a linhagem somática e a germinativa. (Baltimore, Baylis, *et al.*, 2015; Charpentier, 2015; Dujon, 2017; MO, 2015; Porteus e Dann, 2015; Reardon, 2016; Reyes e Lanner, 2017).

De agosto de 2015 a janeiro de 2017 a Sociedade Americana de Genética Humana (ASHG) debateu CRISPR-Cas9 sob os vários aspectos correntes, sob a perspectiva das questões ética, para as quais separou em duas linhas: as questões éticas decorrentes do seu potencial de falhas e as questões éticas decorrentes do seu sucesso. Ao final, divulgou declaração de posicionamento intitulado “*Human Germline Genome Editing*” que se aproxima das manifestações mencionadas anteriormente e incluiu uma proposta de gestão de riscos baseada em três consensos a serem estabelecidos sobre: “i) definições de métodos amplamente aceitos e padrões mínimos para medir a mutagênese *off-target*; ii) o impacto provável e os limites máximos aceitáveis para mutações fora do alvo, e iii) os tipos de genoma editáveis aceitáveis em relação ao seu potencial de consequências não intencionais”. (Ormond *et al.*, 2017, p. 173). No geral, estes consensos em certa medida já haviam sido sinalizados pelo The Hinxton Group (2015) em sua “Declaração sobre Tecnologias de Edição de Genoma e Modificação Genética da Linha Germinativa Humana” (*Statement on Genome Editing Technologies and Human Germline Genetic Modification*), ainda que na discussão hajam diferenças importantes.

### 2.2.3A bancada do laboratório

No entanto, o rápido progresso tem suas desvantagens. “As pessoas simplesmente não têm tempo para caracterizar alguns dos parâmetros básicos do sistema”, diz Bo Huang, biofísico da Universidade da Califórnia, em São Francisco. “Há uma mentalidade de que, enquanto isso funciona, não



temos que entender como ou por que funciona." Isso significa que os pesquisadores ocasionalmente se deparam com falhas. Huang e seu laboratório lutaram por dois meses para adaptar CRISPR para uso em estudos de imagem. Ele suspeita que o atraso teria sido menor se soubesse mais sobre como otimizar o projeto de RNAs-guia, uma nuance básica, mas importante. (Ledford, 2015a, p. 22, tradução nossa).

Do ponto de vista da segurança, poderíamos dizer que o laboratório de pesquisa é composto de quatro elementos: o laboratório propriamente dito, a técnica experimental, o experimento e o pesquisador. O laboratório propriamente dito é um ambiente composto por diversos elementos, dentre os quais estão incluídas a edificação, as instalações, os equipamentos, os insumos, os protocolos de procedimentos e de emergência, as rotinas padrão de trabalho e os EPIs. O resultado desses elementos compõe a parte previsível da segurança. O segundo elemento, a técnica experimental, que no nosso caso é CRISPR-Cas e outras ferramentas de edição gênica, traz consigo os riscos que lhe são próprios. Tratamos de vários deles nos capítulos anteriores. O terceiro elemento é o experimento, no qual estão inclusos os vetores, as células de cultivo, as cobaias, etc. A esse conjunto se somam o quarto elemento, o fator humano: as boas práticas laboratoriais, a experiência e o conhecimento. (Departamento de Química, 2013; Sangioni *et al.*, 2013). Os riscos são, por assim dizer, as fragilidades que permeiam esses quatro elementos e que eventualmente se somam na ocorrência de um incidente de segurança. Visto que o primeiro elemento é previsível e gerenciável, são nos outros três elementos onde residem as incertezas. A demarcação destes elementos é útil para explicitar a importância e a necessidade de se considerar o laboratório de pesquisa quando tratamos dos riscos que envolvem CRISPR-Cas e que antecedem àqueles que decorrem dos produtos que possam advir da técnica. Neste sentido, o laboratório pode envolver características, especificidades, necessidades e ambientes muito diferentes, com dificuldades de controle e contenção muito diversos. Talvez por ser parte inerente à infraestrutura de pesquisa, e por isso equivocadamente entendido como algo trivial, muito pouco é dito sobre riscos nela envolvidos em cada experimento CRISPR particular, salvo quando um fato ou evento extraordinário chama a atenção. No entanto, considerados os aspectos que tratamos anteriormente como os da evolução, da biologia, da genética e da própria técnica CRISPR, só para citar alguns, parece não ser uma tarefa simples distinguir que tipo de evento extraordinário pode acontecer em um experimento e prever quando ele ocorrerá.

Tratemos do caso específico que já citamos em razão de alguns aspectos que ajudam em nosso intento: o experimento com a *Drosophila melanogaster* de Ethan Bier e Gantz, que resultou na criação do *Gene Drive*. (Gantz e Bier, 2015). Ledford descreve uma particularidade das condições sobre as quais o experimento foi feito:

[...] Bier e Gantz usaram três camadas de caixas para conter suas moscas e adotaram medidas de segurança de laboratório normalmente usadas para mosquitos portadores de malária. Mas eles não seguiram as diretrizes sugeridas pelos autores do comentário [Church e uma equipe de cientistas], como a criação de um método para reverter a mudança projetada. Bier disse que eles estavam conduzindo seus primeiros experimentos de prova de princípio e queriam saber se o sistema funcionava antes de torná-lo mais complexo. (Ledford, 2015a, tradução nossa).

Quando se olha do que se trata esse experimento, sob uma perspectiva mais ampla, é possível ponderar o risco e estimar a sua gravidade, seja do ponto de vista do meio ambiente, do ser humano ou de outros animais. Neste caso particular, Heitman e associados, analisaram extenso relatório tratando do tema, divulgado em 2016 pelas Academias Nacionais de Ciências, Engenharia e Medicina (NASEM) dos EUA, e que classificam como “intrigante e eticamente assustador”:

Ao contrário de outras aplicações de técnicas de edição genética até hoje, um impulso genético eficaz poderia alterar a genética mendeliana tradicional em algumas espécies reprodutoras sexualmente, causando a disseminação de um traço genético específico através de uma população e potencialmente ao longo de uma espécie inteira. Essa tecnologia é promissora para novas abordagens para lidar com uma série de desafios complexos e persistentes em saúde pública e ecologia; no entanto, ela simultaneamente aumenta a ameaça de consequências não intencionais e a necessidade de estratégias eficazes de contenção, mitigação e governança. (Heitman, Sawyer e Collins, 2016, p. 173, tradução nossa).

Ao olhar os objetivos centrais explicitados no referido relatório, fica mais fácil entender a amplitude e complexidade dos problemas potenciais que se vislumbram no uso de *gene drives* e que nos fazem perguntar como um experimento como este, com tamanho potencial de riscos e benefícios, pode ser feito em condições de laboratório que suscitam dúvidas acerca dos requisitos de segurança que seriam necessários para sua realização:

1. Analisar o estado da ciência da pesquisa com *gene drive* e identificar as principais técnicas científicas para reduzir riscos ecológicos e outros, bem como estratégias de mitigação que devem ser consideradas antes das liberações de campo de organismos portadores de *gene drive*;
2. Examinar mecanismos de supervisão e regulamentos para pesquisa com organismos *gene drive* - modificados em laboratórios e outros ambientes

contidos ou semicontidos, em testes de campo nos Estados Unidos e em países de baixa e média renda;

3. Discutir considerações legais, sociais ou éticas relevantes ao selecionar locais para testes de campo;
4. Fornecer princípios gerais para orientar pesquisadores e suas instituições, bem como financiadores e reguladores, em práticas responsáveis na pesquisa com *gene drives*. (Heitman, Sawyer e Collins, 2016, p. 173, tradução nossa).

As preocupações parecem não serem sem motivos. Os estudos realizados até o momento indicam que um organismo editado em laboratório com *gene drive* pode espalhar a modificação por até 100% de uma população selvagem e provavelmente esta característica persistiria por gerações. Dentre as consequências indesejáveis estão a propagação de efeitos negativos decorrentes de edições *off-target*, perturbações gênicas não programadas dentro das espécies e a possibilidade de ocorrerem respostas evolutivas indesejadas das espécies alvo ou das doenças que as mesmas eventualmente transmitam, no intuito de tais organismos de manter virulência semelhante ou até mesmo maior que as mesmas continham originalmente. Observam ainda que os efeitos de um organismo geneticamente modificado, uma vez liberado no ecossistema, provavelmente seriam irreversíveis. (Heitman, Sawyer e Collins, 2016).

Outra questão apontada que chama a atenção é que poucos dos padrões regulatórios podem ser aplicados diretamente à pesquisa com *gene drive* e “as abordagens para avaliação ambiental e avaliação de impacto ambiental exigidas pela Lei Nacional de Política Ambiental [daquele país] atualmente em uso, são limitadas demais para tratar a dinâmica populacional e os processos evolutivos que podem ser afetados pela liberação de um organismo geneticamente modificado em um ecossistema complexo”. (Heitman, Sawyer e Collins, 2016, p. 175, tradução nossa). O relatório também avalia como improvável que muitos dos Comitês Institucionais de Biossegurança tenham a perícia ou recursos necessários para avaliar a segurança da pesquisa genética ou para aconselhar a prática dos pesquisadores e que menos ainda estejam preparados para tratar de questões de biossegurança ou uso intencional de *gene drive*.

Merece destaque especial os seguintes elementos apontados no relatório:

Uma característica fundamental das recomendações do comitê do NASEM e sua abordagem geral foi a observação de que as questões sobre a conduta responsável da pesquisa de *gene drive* dependem de valores em todas as

etapas. Compromissos éticos amplamente assumidos com relação à prevenção, promoção do bem-estar humano e proteção do meio ambiente implicam que a sociedade deve levar a sério a promessa da pesquisa sobre os *gene drive*. Mas esses mesmos valores podem, ao mesmo tempo, argumentar por restrições - até mesmo proibições - contra a pesquisa de *gene drive*, se apresentar riscos de danos prejudiciais que superem a probabilidade de benefícios. O que constitui um benefício significativo e um dano insuportável não é um cálculo estritamente científico. (Heitman, Sawyer e Collins, 2016, p. 175, tradução nossa).

Além disso, o documento aponta que pesquisas com *gene drive* não se enquadram adequadamente no alcance das agências americanas envolvidas na regulamentação da biotecnologia (por exemplo, a *US Food and Drug Administration*, a Agência de Proteção Ambiental e o Departamento de Agricultura), tampouco no que se refere aos instrumentos internacionais como a Convenção sobre Diversidade Biológica e seu Protocolo de Cartagena. Por fim, outra consideração de natureza ética que merece atenção, mesmo porque coaduna com a ideia já abordada de aproximar a ciência da sociedade, é a seguinte:

O comitê discutiu que pesquisadores, funcionários institucionais, financiadores e reguladores não podem realmente avaliar os potenciais benefícios e malefícios da pesquisa com *gene drive* e da possível liberação de organismos modificados no meio ambiente se não coletarem informações de indivíduos, comunidades e públicos que serão afetados por eles. O engajamento público deve ser parte integrante do planejamento, avaliação e regulação da pesquisa de *gene drive*, incluindo considerações de biossegurança. (Heitman, Sawyer e Collins, 2016, p. 175, tradução nossa).

Muito embora o relatório que aqui mencionamos se reporte aos aspectos relacionados à regulação e a organismos institucionais norte-americanos, o debate em si acerca dos aspectos científicos sobre *gene drive* extrapolam estes limites político-institucionais. Além disso, salvo raras exceções, a maior parte dos países, incluindo o Brasil, possivelmente poderiam se enquadrar em grande medida na análise apontada e mesmo os que dela se equidistam, possivelmente o fariam para um quadro de situação menos favorável ainda.

Vale notar que as questões levantadas em relação ao caso específico que adotamos a título de exemplo (*gene drive*), não é uma exceção, nem tampouco um problema exclusivo da pesquisa gênica. Louro, ao tratar dos nanomateriais (assunto a que nos referimos anteriormente e que vem sendo discutido como uma possibilidade de ser utilizado como vetor de transporte para pacotes de edição CRISPR), a partir do que preconiza a Organização Mundial da Saúde, analisa que: “considerando o paradigma de análise de risco (*risk analysis*) convencional, que incorpora três

componentes: avaliação do risco (*risk assessment*), gestão do risco e comunicação do risco, tem surgido a dúvida sobre a sua aplicabilidade ao caso dos NMs”. (Louro, 2013, p. 19; OMS, 2010).

Revisitar exemplos do passado é uma forma de aprendizado valioso, e não raras vezes doloroso, quando falamos de riscos, biossegurança e bioproteção:

Lamentavelmente, são variados os exemplos de um passado recente em que tecnologias emergentes com enorme potencial para aplicações industriais ou médicas se revelaram tardiamente como nocivas para o ser humano e para o ambiente (EEA, 2013; 2001). Um desses exemplos foi a produção e ampla utilização das fibras de asbestos para fins industriais e revestimentos na construção civil, que se verificou na segunda metade do século XX. Apesar de repetidos alertas quanto aos seus potenciais efeitos adversos para o homem, estes foram ignorados prevendo-se, em consequência, um acréscimo da ordem dos milhares de casos de mesotelioma e de cancro do pulmão, nos próximos vinte e cinco anos. Outro caso paradigmático é o dos raios-X, cuja utilização se banalizou após a sua descoberta no final do século XIX, dadas as suas potencialidades para diagnóstico e terapêutica. Embora os seus efeitos agudos tenham sido precocemente reconhecidos, os efeitos a longo prazo, resultantes da exposição repetida, foram ignorados durante mais de cinquenta anos, sendo que apenas em 1949 o *International Commission on Radiation Protection* (ICRP) reconheceu que se deveria minimizar a exposição ao raio-X devido ao seu efeito cancerígeno. Contudo, só em 1996 foi publicada a Diretiva Europeia sobre radiação ionizante baseada nos limites de dose estabelecidos pelo ICRP alguns anos antes, cuja implementação se tornou mandatória para todos os Estados Membros (EEA, 2013; 2001). Em qualquer destes casos, as consequências só se tornaram evidentes décadas após as primeiras exposições ocorrerem, devido aos longos períodos de latência dos processos cancerígenos, impedindo a ação no sentido de minimizar ou impedir a exposição. Até que ponto os alertas que foram surgindo nos casos ilustrados poderiam ter conduzido a ações precoces para reduzir os efeitos adversos, a um custo mais baixo para a sociedade, se tivesse sido aplicado o princípio da precaução? [...] Enquanto a incerteza persistir quanto aos potenciais efeitos adversos dos NMs, procura-se que a aplicação do princípio da precaução permita o equilíbrio entre os riscos que possam vir a ser reconhecidos e os benefícios sociais que deles advêm. (Louro, 2013, p. 23–24).

Isso nos faz lembrar evidentemente, que quando se fala do binômio experimento-laboratório, convém considerar as várias fases que o compõe em função do tipo de pesquisa em desenvolvimento – para fins de aplicação no campo clínico, veterinário ou agrônômico. Do que decorre que em determinadas fases da pesquisa, o laboratório está fora do laboratório, está no mundo. Some-se a isso, o fato mencionado dos efeitos tardios, que podem se manifestar somente décadas mais tarde, como foi o caso amplamente conhecido da talidomida, ou de manifestação em idade avançada como o Alzheimer, ou mesmo doenças transgeracionais como as mitocondriais, cuja manifestação depende de limiares de expressão ou de outras condições como sexo, por exemplo.

Com efeito, avaliar os riscos da pesquisa gênica é um desafio que transcende em muito o campo do conhecimento específico da área objeto de estudo. Fazer com que as normas de biossegurança e bioproteção consigam acompanhar o rápido desenvolvimento das pesquisas e implementá-las sob a égide de precaução e da proteção das gerações futuras, em especial com CRISPR, constitui um desafio que para muitos equivale a um enigma para o qual parece não haver uma solução.

### 2.3 BREVE REFLEXÃO SOBRE A REALIDADE DO MUNDO ATUAL, NA QUAL CRISPR SE INSERE

Entramos no novo milênio por um portal de fogo [...] "O que começa com a falha em proteger a dignidade de uma vida, com muita frequência acaba com calamidade para nações inteiras". (Velji e Bryant, 2015, p. 541 apud Annan, 2001).

Falamos de biossegurança e riscos na edição de genes e suas diversas implicações, o que nos remeteu a falar em avaliação de risco, que é um processo eminentemente mediado por valores. (Heitman, Sawyer e Collins, 2016; Leite, 2006). Neste sentido, é inevitável inferir que em sentido mais amplo, discutir as ameaças e oportunidades que decorrem do uso da ferramenta molecular CRISPR-Cas é também um processo mediado por valores, ainda que o rol dos riscos e benefícios, como vimos, seja um misto de questões técnicas altamente específicas muito diversas e questões sociais e humanitárias. Embora óbvio, é preciso lembrar que não existe pesquisa fora do mundo, assim como não existe laboratório fora dele, a neutralidade científica é um mito. Da mesma forma, todas as pessoas estão no mundo, influenciam e são influenciadas por ele, sejam elas pesquisadores, bioeticistas, gestores de ciência & tecnologia, financiadores de pesquisa, empresários de biotecnologia, medicamentos, agronegócios, pecuaristas, jornalistas científicos e pacientes.

Todos, indistintamente, ao se debruçarem sobre o tema, o fazem sob os "óculos" de seus valores, que além de serem muito diferentes de país a país, pessoa a pessoa, são fortemente permeados de interesses e necessidades, muitos deles absolutamente legítimos e dotados de forte espírito humanitário e elevados sentimentos altruístas. No entanto, há uma distância paradigmática entre este imaginário de espírito altamente elevado e evoluído - que na aparência soa como um grande catalizador de consensos - e o mundo real, sobre o qual CRISPR-Cas é operado e onde as várias visões de mundo se antagonizam e se contrapõem de

maneiras muito diversas, algumas até dramáticas. Vamos ver a seguir alguns dados de realidade que explicitam essas várias visões de mundo e que se traduzem em valores que permeiam nossa sociedade global e ajudam a montar este intrincado quebra-cabeças no qual nos metemos com a edição gênica.

Mais adiante trataremos dos fundamentos éticos e discutiremos que bioética nos ajuda a enfrentar os dilemas e conflitos desta questão, no entanto é oportuno desde logo assinalar que as diferentes perspectivas conduzem a diferentes conclusões, algumas delas absolutamente incompatíveis entre si. Só para exemplificar, para algumas, a vida é o valor absoluto, para outras a liberdade, para outras, a obediência a um código de condutas e para outras a dignidade, seja lá o que ela signifique. Isto já nos dá uma pista de onde cada perspectiva destas nos levará, mas ainda precisamos de mais alguns elementos para esta discussão.

### **2.3.1 As determinantes sociais, geopolíticas e econômicas de um mundo globalizado, desigual, excludente e em conflito**

O comovente e pragmático lembrete de Kofi Annan do "efeito borboleta" é, de fato, a nova ordem ética mundial: "As fronteiras de hoje não são entre as nações, mas entre os poderosos e os sem-poder, os livres e os que apresentam restrição da liberdade, os privilegiados e os humilhados. Hoje, nenhum muro é capaz de separar as crises humanitárias ou de direitos humanos em uma parte do mundo, das crises de segurança nacional em outras partes". (Velji e Bryant, 2015, p. 541 apud Annan, 2001).

Uma maneira interessante de discutir as determinantes sociais, geopolíticas e econômicas desse nosso mundo globalizado é sob o olhar crítico da realidade dos fatos e eventos que acompanham a nossa contemporaneidade. Faremos aqui um rápido recorte de algumas questões persistentes, que em boa medida tem pautado a comunidade internacional e os organismos globais como a ONU e suas afiliadas.

#### CRISPR frente a economia global

Começemos por falar um pouco sobre alguns dados relacionados a questões econômicas que quando comparadas, formam um contraste *sui generis*.

Assim como CRISPR-Cas9, como ciência é uma imensa injeção de ânimo e esperança para um número incalculável de pesquisadores e pessoas no mundo todo, também o é em igual medida para os setores ligados à biotecnologia. A diferença é que neste último caso, é possível calcular o tamanho deste ânimo. Erp e associados, ao traçar um mapa destas últimas décadas de desenvolvimento de tecnologias de

manipulação do DNA, a partir do uso de enzimas de restrição do tipo II, fala do surgimento de uma “indústria global de biotecnologia”. Contabilizando o frenesi do setor econômico ligado a CRISPR, em pouco mais de um ano, calcula-se que foram agremiados US\$ 600 milhões em capital de risco entre 2013 e 2015, com participações de empresas tradicionais, startups e gigantes de setores farmacêutico, agrícola, biomédico e fornecedores de insumos para pesquisa (vide Tabela 4), no que ele denomina de “a mina de ouro da biotecnologia”:

É difícil estimar com precisão o valor do mercado nascente de nucleases CRISPR RNA-guiadas na indústria de Biomed, mas os documentos da oferta pública inicial (IPO) da Horizon Discovery Group, plc., que tem PI Cas9 licenciado, indica o tamanho do mercado de US\$ 46 bilhões e os recentes financiamentos de capital privado de empresas de engenharia do genoma baseados em Cas9 incluem: Caribou Biosciences (empreendimento não divulgado estimado em US \$ 2,9 milhões da Novartis), CRISPR Therapeutics (US\$ 25 milhões), Recombinetics, Inc. (US\$ 5 milhões), Intellia Therapeutics (US\$ 15 milhões) e Editas Medicine (US \$ 43 milhões).

[...] A Novartis fez parceria com uma empresa de *private equity* de nível 1, a Atlas Ventures, para investir US\$ 15 milhões para dar início à Intellia Therapeutics e a Cellectis S.A., parceira da Pfizer, que usará tecnologias baseadas em Cas9 para produzir células T com receptores de antígenos quiméricos. Em janeiro deste ano, a AstraZeneca anunciou quatro parcerias com a academia em torno do uso de nucleases Cas9 para validar novos alvos de drogas. (Erp, van *et al.*, 2015, p. 88, tradução nossa).

Tabela 4 - Áreas e produtos de interesses da indústria de biotecnologia baseadas em Cas9

Setor	Produto/aplicação	Empresa	Propriedade intelectual
Alimentos	logurte, queijo	Danisco (DuPont)	7 919 277; 8 361 725; 13/722 539; 11/990 885
	Culturas	Dow Agrosiences Livestock	PCT/US2013/039979 compartilhado com Sangamo Biosciences
	Pecuária	Recombinetics	PCT/US2014/0201857
	Culturas	Cellectis Plant Sciences	Boston Children’s Hosp., Institut Pasteur, licença
Laboratórios	Ferramentas de pesquisa	System Biosciences	US 14/216 655
	Sistemas de expressão	Sigma-Aldrich	PCT/US2013/073307
	Ferramentas de pesquisa	GE Healthcare	Licença ampla
	Modelos animais	Sage	Caribou, licença ampla
	Ferramentas de pesquisa	ThermoFisher	Cellectis, Sublicenciamento



	Modelos animais	Taconic	Licença ampla
<b>Sublicenciando</b>	Ag, Industrial, Bio	Caribou	PCT/US2013/053287
<b>Médico</b>	Farmacêutica	Novartis	Caribou Licença
	Apenas aplicações <i>in vitro</i>	Collectis	Boston Children's Hosp., Institut Pasteur, licença
	Validação de Alvo ("target validation")	AstraZeneca	Modelo de Inovação, licença aberta
	Terapêutica	Crispr Therapeutics	PCT/US2013/032589
	Doenças monogênicas	Sangamo Biosciences	PCT/US2013/032381; PCT/US2013/039979; PCT/US2013/028348
	Terapêutica	Intellia	Caribou, Licença
	Terapêutica	Editas	Broad, Duke, MGH, licenças

Fonte: adaptado de Erp, van *et al.* (2015, p. 88).

Segundo a revista Nature, somente em 2014 o número de pedidos de patente que mencionavam CRISPR teve um salto significativo e acirraram a disputa por mercados. Por exemplo: MIT - Massachusetts Institute of Technology: 62 pedidos; Broad Institute: 57; MIT bioengineer Feng Zhang: 34; Danisco: 29 e, Dow Agrosiences: 28. (Ledford, 2015a).

A respeito destas disputas de patentes, Sherkow faz um conjunto de considerações de consequências que convém serem consideradas:

[...] se o USPTO [*US Patent and Trademark Office*] permite que estes pedidos de patentes avancem – e se as patentes em última análise forem aplicadas – elas serão suscetíveis de prevenir até mesmo o uso mais básico do sistema CRISPR-cas9 sem licença. A pesquisa acadêmica geral quase certamente seria responsável por violação de patente. Ao mesmo tempo, o estatuto de patente imuniza a pesquisa realizada em conexão com a introdução de novas informações biológicas ou sobre drogas na *Food and Drug Administration* dos EUA. Assim, dependendo do esquema de fiscalização e do desenvolvimento da tecnologia, a pesquisa acadêmica poderá estar sujeita a alegações de violação de patente, enquanto alguns desenvolvimentos comerciais poderão não ser controlados. (Sherkow, 2015, p. 256, tradução nossa).

Se as soluções de disputa de patentes encontradas para outras tecnologias como do DNA recombinante, RNA de interferência (siRNA) e PCR podem ser um modelo de solução para CRISPR-Cas9, vez que permitiram superar as potenciais barreiras, limitações, dificuldades e impedimentos para a ciência e para o mercado (Sherkow, 2015), de fato, essas soluções não alcançaram a bom termo a sociedade global como um todo. Muitos países de terceiro mundo como os do continente sul-americano e africano continuam com acesso limitado ou mesmo sem acesso nenhum

aos produtos advindos dessas tecnologias, e mesmo em países considerados ricos como os Estados Unidos da América, há uma parcela imensa da população que também não é beneficiada, por não dispor de recursos suficientes para pagar os altos custos dessas inovações.

Os investimentos acima apontados são apenas um pequeno recorte que traduz o universo dos interesses econômicos nos quais se insere a disputa de patentes em torno de CRISPR-Cas9, mas que também influenciam vários aspectos da economia global e a própria dinâmica do setor de saúde como um todo. Aliás, disputas e interesses que parecem seguir ao largo de muitas realidades mundo afora. Recuperando o pensamento de Pellegrino, Velji faz uma reflexão interessante sobre ética biomédica ocidental, ética esta que permeia não apenas as relações do setor, mas também as interpessoais e econômicas:

Um perigo da forma ocidental (e particularmente a americana) de ética biomédica é “o desencadeamento do individualismo absoluto e atomismo moral de um tipo socialmente destrutivo” [(Pellegrino, 1992)]. Essa poderosa e incessante motivação opera em questões como eutanásia, suicídio assistido, aborto, compra de órgãos para transplante, todas as formas de tecnologia reprodutiva e paternidade substitutiva, preservação da confidencialidade e uso de verbas de saúde pública para pesquisas. (Velji e Bryant, 2015, p. 522).

O confronto de alguns dados de uma realidade, distante para muitos, ajuda a entender esse “atomismo moral de um tipo socialmente destrutivo”, não para encontrar uma razão que possa de alguma forma justificar um certo sentimento de culpa que eventualmente aflija alguns dos mais favorecidos, mas porque ele evidencia as chances reais de que produtos e benefícios advindos da pesquisa com CRISPR-Cas de fato possam chegar a lugares onde nem mesmo água potável chega. Vejamos a seguir alguns dados.

### A pobreza extrema e a exclusão como fenômeno global

Em Nairóbi, 70% da população vive em favelas, 79% em casas de um único cômodo, sem água corrente ou saneamento e frequentemente sem eletricidade. Em algumas dessas áreas, a taxa de mortalidade entre crianças abaixo de cinco anos, associada a má nutrição chega a 25%. (Velji e Bryant, 2015).

Apenas a malária mata 2.800 pessoas em um único dia. Segundo o *Annual Report 2005* do Banco Mundial, 314 milhões de africanos viviam com apenas 1 dólar por dia, incrivelmente o dobro do que em 1981; no mundo, segundo as estimativas,

eram 1,3 bilhão de pessoas com essa renda. Dos 32 países com os menores índices de desenvolvimento humano, 24 estão na África que abriga 34 dos 48 países mais pobres do mundo. Considerando o mundo em desenvolvimento como um todo, 8 mil pessoas morrem diariamente de condições relacionadas ao HIV/AIDS, foram 2 milhões somente em 2005 e em 2015, apesar dos esforços chegou-se a ainda impressionantes 1,1 milhão de mortes. Ao mesmo tempo, semanalmente 10 mil mulheres morrem no parto e estima-se que 115 milhões de crianças nesse mesmo mundo em desenvolvimento não frequentem a escola. A contraparte da pobreza extrema vivida em regiões como na África Subsaariana parece ser a assombrosa dívida externa, que Abbasi chama de “a nova escravidão”, (World Bank, 2005), (Abbasi, 1999), (Bryant *et al.*, 2012), (ONU - Brasil, 2016a), (Unaid, 2016), (Velji e Bryant, 2015):

Um efeito reconhecido da profunda dívida nacional nos países em desenvolvimento é a associação dívida-morte: quanto maior o pagamento de juros em função da dívida de uma nação, menor a expectativa média de vida dos cidadãos dessa mesma nação. (Velji e Bryant, 2015, p. 529).

O drama da pobreza extrema, dos excluídos – nas palavras de (Jonas, 2006), os “condenados da terra” - e da insuficiente ajuda humanitária na África Subsaariana não é em absoluto uma situação isolada, nem tampouco o único drama de nossa contemporaneidade.

No campo da geopolítica, aspectos econômicos e de macro poder do mundo globalizado, sobretudo a partir dos últimos cem anos, vêm acompanhados e marcados por fenômenos muito diversos, mas que no conjunto, concorrem para formar uma única realidade sombria. Duas grandes guerras mundiais, infindáveis guerras regionais e locais, genocídios, atentados terroristas e violações humanitárias em grande escala, e não raras vezes permanentes, se somam a esse mosaico de horrores, como traços inconfundíveis de nossa civilização. O uso da tortura como prática institucionalizada em países como o Brasil e no Caribe, o drama do exílio forçado de milhões de pessoas, a concentração cada vez maior da riqueza global em mãos de grandes conglomerados financeiros transnacionais (o chamado capital sem pátria) e a exclusão cada vez maior da maioria da população mundial, não apenas do acesso à riqueza e aos bens de consumo, mas sobretudo da exclusão do acesso a bens fundamentais como água, comida e território, de bens sociais como saúde, educação e cultura e dos produtos e benefícios do desenvolvimento científico e

tecnológico parecem ser a afirmação de um processo civilizatório às avessas. Essa realidade faz ruir, ao menos no horizonte das próximas décadas, o sonho de uma sociedade perfeita, justa, solidária, igualitária e fraterna. Refletir se este mundo, esta sociedade, será capaz de fazer escolhas que protejam o planeta e a vida que dele depende e, se sendo isto possível, se tais escolhas estarão pautadas em valores éticos e políticas globais que alcancem inclusive os mais vulneráveis, incluindo-se não apenas os seres humanos, mas também o meio ambiente, parece ser um desafio insuperável, e talvez até mesmo impossível.

Somem-se a esse conjunto de fatos da realidade outros que, embora mais específicos, também atingem a humanidade de maneira intensa e avassaladora e desnudam valores éticos, ou a ausência deles, incompatíveis com as pautas universais de direitos humanos. Entre estes estão o tráfico internacional de pessoas para fins de escravidão, a exploração sexual e comércio de órgãos para transplante; a discriminação e a violência permanente por questões de sexo, gênero, étnicas e religiosas e o exílio forçado. Os registros frequentes disponíveis no site da ONU dão a dimensão global destes problemas, a sua gravidade moral e humanitária e a incapacidade dos sistemas regionais e globais de defesa e promoção dos direitos humanos e da paz mundial, de romper com o *status quo* e de promover um mundo melhor para as gerações futuras. (ONU - Brasil, 2011; Brasil, 2016; ONU - Brasil, 2016b).

Talvez o flagelo social mais dramático a expressar o estágio evolutivo de uma sociedade seja a fome, tanto por ser a mais básica necessidade humana, como porque é o resultado de um conjunto amplo de circunstâncias que passam pela completa exclusão social e econômica, pela falta absoluta de oportunidades de acesso à educação e à saúde, pela ruptura de valores humanitários como fraternidade e solidariedade e pelo afastamento profundo de compromissos políticos com igualdade e justiça social.

Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), a subnutrição crônica atinge cerca de 800 milhões de pessoas. (ONU, 2016a). A declaração de Ertharin Cousin, diretora-executiva do PMA - Programa Mundial de Alimentos das Nações Unidas, durante a visita do Papa Francisco à ONU, é emblemática: “o que precisamos, o que nos falta, é a vontade política global para assumir a feroz urgência de resolver essa grande falha [a fome] de nossa humanidade comum”. (ONU, 2016b).

Não sem razão, as palavras de Koffi Annan soam como um alerta: “O que começa com o fracasso em manter a dignidade de uma vida, muitas vezes acaba com uma calamidade para nações inteiras”. (Annan, 2001).

### Da política do terror à geopolítica da exploração econômica dos vulneráveis

Sobre a escravidão no mundo, em 2010 o tráfico de pessoas atingiu mais de 2,4 milhões de pessoas, das quais 80% mulheres e crianças usadas como escravas domésticas e sexuais, para exploração infantil e extração de órgãos para o tráfico, (ONU, 2010). As vítimas são retiradas à força de seus locais de origem em mais de 152 países, e distribuídas entre 124 países de destino, através de 510 fluxos diferentes em todo o mundo. (ONU, 2016c). Mais da metade das vítimas são oriundas dos Balcãs e da ex-URSS, 13% da América-latina, 7% da Europa Central, 5% da África e 3% do Leste Asiático. (ONU, 2010; ONU - UNODC, 2010; ONU - UNODC, 2014). Em 2014, segundo a Organização Internacional do Trabalho (OIT), as 21 milhões de pessoas (homens, mulheres e crianças) submetidas ao trabalho escravo, globalmente, geraram uma receita para seus algozes de 150 bilhões de dólares ao ano e se constitui em um dos negócios ilícitos mais lucrativos na Europa, onde criminosos lucram anualmente 3 bilhões de dólares. (ONU - Brasil, 2010; ONU, 2014).

Ainda neste contexto, há o gravíssimo problema dos refugiados no mundo<sup>59</sup>. As palavras de Grandi, alto comissário da ONU para Refugiados são o testemunho dramático de milhões de seres humanos: “ao invés de dividir responsabilidades, nós vemos fronteiras sendo fechadas. Em vez de vontade política, existe paralisia política”. Duas palavras de Ki-moon, Secretário Geral da ONU, dispensam comentários:

[...] a morte de refugiados no Mediterrâneo é “um testemunho trágico do nosso fracasso coletivo” em lidar com sofrimento dos que fogem da guerra e violência.

[...] uma retórica política discordante em questões de asilo e migração, a crescente xenofobia, e as restrições ao acesso ao asilo tornaram-se cada vez mais visíveis em determinadas regiões, e o espírito de responsabilidade partilhada foi substituído por uma narrativa de intolerância, carregada de ódio. (ONU, 2016d).

---

<sup>59</sup> Dizemos que em um mesmo contexto porque não raras vezes, durante o processo de fuga de seus locais de origem, refugiados são sequestrados no meio do caminho, muitas vezes durante o transporte clandestino, e desviados para servir ao tráfico humano.

No que se refere à disputa por territórios, tema tão antigo quanto se há de registros na história de nossa civilização e que sempre foi palco dos mais bárbaros e atrozos atos de violência contra a humanidade, uma situação chamou especial atenção e ocupou o foco dos meios de comunicação de massa internacionais por algum período: a construção de um muro na Cisjordânia, para afastar e expulsar palestinos, num retrocesso humanitário impensável desde a queda do Muro de Berlim. Dos 710 km que Israel projetava construir, 400 km já tinham sido erguidos em 2010, 85% dentro da Cisjordânia e 15% na chamada Linha Verde estabelecida ao final da 1ª guerra árabe-israelense (1848-1949), deixando 97 comunidades palestinas totalmente isoladas, 360 mil palestinos separados de seu povo. Ao mesmo tempo, o isolamento forçado deixou a Cisjordânia sem suas principais áreas cultiváveis, como o Vale do Jordão e impôs dificuldade inaceitáveis de acesso a bens básicos e essenciais como hospitais, escolas e universidades, justamente em uma região onde a guerra torna esses serviços que são importantes e necessários em qualquer lugar do mundo, indispensáveis e vitais. (Barbosa, Lucas, 2010).

Só no ano de 2015, a fuga desesperada de refugiados de áreas de conflito, levou mais de 1 milhão de pessoas a tentar a travessia do Mediterrâneo em direção a Europa, resultando em 3.771 mortes. Nas palavras de Marie-Pierre Poirier, coordenadora especial do UNICEF para a crise europeia de refugiados e migrantes: “As histórias que eu pessoalmente tenho ouvido de crianças que fazem esta viagem são horríveis. Nenhuma criança deve enfrentá-las. Suas vidas estão nas mãos de contrabandistas que se importam com nada mais do que o dinheiro”. (ONU - Brasil, 2016c). Segundo dados da Agência da ONU para Refugiados (ACNUR), em 2015 uma a cada 113 pessoas no mundo havia solicitado refúgio, decorrente de perseguição, conflito, violência generalizada ou violações de direitos humanos, chegando a um total de 65,3 milhões de pessoas. São 24 seres humanos a cada minuto forçadas a abandonarem tudo para sobreviver, das quais as crianças somam 51%. Destes, apenas 0,66% conseguiram reassentamento através do ACNUR, distribuídos por 30 países diferentes. (ONU - ACNUR, 2015, 2016).

Mais de 230 milhões de crianças convivem em regiões afetadas por grupos armados, sobretudo em zonas de guerra, e aproximadamente 15 milhões sofrem o impacto direto desta violência, para quem 2016 foi considerado um dos piores anos. Nas palavras de secretário-geral da ONU, Ban Ki-moon: “Não podemos mais tolerar um mundo onde crianças são mortas e mutiladas, onde são sequestradas,

sexualmente violentadas, forçadas a se tornarem soldados e onde as escolas e hospitais são atacados”. (ONU - Brasil, 2016d; Human Rights Council, 2015). Segundo o Fundo das Nações Unidas para a Infância – UNICEF – em média quatro escolas ou hospitais são atacados ou ocupados por forças e grupos armados por dia. (ONU - Brasil, 2016e). Os dados falam por si mesmos:

No Afeganistão, por exemplo, 163 escolas e 38 unidades de saúde foram atacadas, enquanto na Síria foram registrados 60 ataques a estabelecimentos de educação, além de nove casos de uso militar de escolas e 28 ataques a instalações de saúde.

No Iêmen, 92 escolas foram utilizadas para fins militares por forças e grupos armados, enquanto no Sul do Sudão foram sete casos de ataques a escolas e 60 envolvendo o uso militar.

Um total de 543 estabelecimentos de ensino foram danificados ou destruídos no Estado da Palestina e três ataques foram documentados em escolas israelenses. De acordo com as autoridades de educação no Nordeste da Nigéria, um total de 338 escolas foram destruídas e/ou danificadas entre 2012 e 2014. (ONU - Brasil, 2016e).

No Brasil, os dados de 2016 apontam que a cada 6 horas uma mulher é assassinada por um agressor, geralmente conhecido pela vítima. (ONU - Brasil, 2016f). Em 2015, foram registradas pelo Disque 100, 17.588 denúncias de violência sexual contra crianças e adolescentes, o que resulta na conta trágica de 2 ocorrências a cada hora, 70% das vítimas são meninas. (ONU - Brasil, 2016g).

### Alguns aspectos da saúde global

Outro aspecto que clama à reflexão, diz respeito ao histórico recente de pandemias como a gripe H1N1 e epidemias como a do vírus ebola e nos conecta diretamente ao tema biossegurança.

Os primeiros registros do ebola são de 2013. Em 2014 o Conselho de Segurança da ONU declarou o ebola como surto. Foi a primeira vez desde sua criação que o conselho fez uma reunião para tratar de um problema de saúde pública. Dentre as ações encaminhadas, foi mobilizada a Coordenação e Avaliação da ONU para Desastres – UNDAC, que também pela primeira vez foi chamada a lidar com um surto de doença, vez que tradicionalmente lida com desastres ambientais.

Já em 2015 haviam sido registrados 20.747 casos de ebola, entre confirmados, prováveis ou suspeitos, com 8.235 mortes relatadas. Em 2016 o número já havia subido para 11,3 mil mortes, atingido principalmente Libéria, Guiné e Serra Leoa.

A gravidade da epidemia levou a ONU a instituir uma Missão das Nações Unidas para a Resposta de Emergência ao Ebola - UNMEER. As estimativas iniciais de demanda financeira para a ajuda internacional eram da ordem de 1 bilhão de dólares, destinada a ações essenciais na região afetada para os primeiros seis meses. (ONU - Brasil, 2014; ONU - Brasil, 2014; ONU - Brasil, 2015a; ONU - Brasil, 2016h; ONU - Brasil, 2016i). Em 2015, um painel de especialistas independentes foi convocado pela OMS para analisar a resposta da agência ao surto. Dentre as conclusões a que o grupo apontou no relatório, constam: 1º) que o engajamento do sistema ONU chegou muito tarde para frear o vírus; 2º) a estratégia de atribuir dupla tarefa à Missão das Nações Unidas para a Resposta de Emergência do Ebola – UNMEER, de obter apoio financeiro de alto nível político e ao mesmo tempo coordenar os esforços nos países afetados, prejudicou este último, que não atingiu os resultados esperados; 3º) é necessário o envolvimento desde o início de outras agências da organização, como por exemplo o Escritório da ONU para a Coordenação de Assuntos Humanitários - CHA, e por fim, 4º) que “a crise do ebola não só expôs as falhas organizacionais no funcionamento da OMS, mas também demonstrou limitações do Regulamento Sanitário Internacional (2005)”. (ONU - Brasil, 2015b). Além disso o relatório afirma que “neste momento, a OMS não tem a capacidade operacional ou a cultura de proporcionar uma resposta de emergência plena de saúde pública [... e que] a agência [OMS] sofre com a falta de compromisso político e financeiro dos seus Estados-Membros”. (ONU - Brasil, 2015c; ONU, 2015a).

O grupo de especialistas avaliou também que se as recomendações apresentadas pelo Comitê de Revisão sobre a Pandemia (H1N1) de 2009 tivessem sido implementadas, a comunidade global estaria enfrentando a crise do Ebola em uma situação muito melhor. (ONU, 2015b; Panel of outside independent experts - OMS, 2015).

Ainda naquele mesmo ano o Secretário da OMS apresentou resposta ao relatório, no qual encaminha várias questões, dentre as quais a necessidade de se acelerar a Pesquisa & Desenvolvimento (P&D) para resposta a epidemias ou emergências de saúde. (OMS, 2015).

Em 2016 os Estados-Membros da OMS aprovaram uma reforma, que se traduziu em um novo Programa para Emergências de Saúde, que pretende adicionar capacidades operacionais ao papel técnico e normativo tradicional da agência para surtos e emergências humanitárias. (ONU - Brasil, 2016j). Em 2018 a OMS divulgou



a 2ª revisão da lista de agentes patogênicos prioritários para P&D – a 1ª lista é de 2015, e a 1ª revisão foi feita em 2017 -, para os quais não existem medidas terapêuticas e profiláticas eficazes e conclama a comunidade médica e científica a desenvolverem pesquisa para o enfrentamento de possíveis surtos:

Os especialistas consideram que [...] existe uma necessidade urgente de acelerar a pesquisa e desenvolvimento para: febre hemorrágica da Crimeia-Congo; doença do vírus ebola e febre hemorrágica de Marburgo; febre de Lassa; síndrome respiratória coronavírus do Oriente Médio (MERS) e síndrome respiratória aguda severa (SARS); infecção pelo vírus Nipah e doenças relacionadas aos henipavírus; febre de Vale do Rift; vírus zika; doença X.

A “doença X” representa o conhecimento de que uma grave epidemia internacional poderia ser causada por um patógeno atualmente desconhecido, que levaria a doenças humanas. Por isso, os planos de pesquisa e desenvolvimento buscam explicitamente habilitar a preparação de P&D transversal, que também é relevante para uma “doença X” desconhecida, na medida do possível. (OPAS - OMS, 2018).

Com efeito, as crises do H1N1 e do Ebola evidenciaram a real capacidade dos países e organizações de saúde de atuação regional e global, como a OPAS e a OMS, mas não apenas estas, de enfrentamento para superação de ameaças decorrentes de uma possível doença X, que pode eventualmente ser decorrente de liberações (acidentais ou intencionais) no meio ambiente de microrganismos exóticos, resultantes por exemplo de edição por CRISPR-Cas. Este é um momento interessante para recuperarmos tudo que discutimos nos capítulos anteriores sobre mecanismos evolutivos, mutações, plasmídeos, transferências horizontais de pacotes CRISPR-Cas, *gene drive*, biossegurança e bioproteção, só pra lembrar alguns, e avaliarmos o tamanho de nossa vulnerabilidade. Afinal, quando tratamos de riscos, como aqui estamos a fazer, além de avaliar as consequências decorrentes da ameaça propriamente dita, é imperioso avaliar também nossa capacidade, disposição política e econômica e nossa permeabilidade humanitária de lidar com elas.

### Meio ambiente e globalização

Em relação às agressões ao meio ambiente, as estimativas apontam que existem nos oceanos 5,2 trilhões de pedaços de plástico flutuando e ameaçando a vida marinha. (ONU - Brasil, 2016k). Segundo dados da OMS, estima-se que as questões ambientais estejam na origem da morte de 12,6 milhões pessoas a cada ano em todo o mundo. Só o chumbo levou à morte aproximadamente 650 mil vítimas em

2010. Anualmente estima-se que 7 milhões de pessoas morrem em decorrência da poluição do ar. (ONU - Brasil, 2016k; ONU - Brasil, 2017).

Segundo relatório da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), somente em 2015 a indústria química europeia produziu 319 milhões de toneladas de compostos (incluindo-se os nanomateriais que citamos anteriormente), dos quais 117 milhões foram considerados perigosos para o meio ambiente. (ONU - Brasil, 2018). Os dados de contaminação de solo em alguns países chegam a uma situação alarmante:

Na Austrália, existem 80 mil localidades cujo solo foi contaminado. A China considera que 16% de suas terras e 19% dos solos usados na produção agrícola estão poluídos. No Espaço Econômico Europeu e nos Balcãs Ocidentais, existem 3 milhões de locais contaminados. Nos Estados Unidos, 1,3 mil regiões estão na lista de prioridades nacionais *Superfund*, em que o governo inclui áreas com elevado índice de poluição. (ONU - Brasil, 2018).

O mesmo relatório aponta que em 2025, os centros urbanos devem chegar a produzir 2,2 bilhões de toneladas anuais de resíduos sólidos. Já na pecuária, o volume total de esterco chegou a 124 milhões de toneladas em 2016, dos quais 86 milhões de toneladas foram deixadas no pasto. Além do problema relacionado ao efeito estufa, todo esse material pode conter altas quantidades de metais pesados, agentes patogênicos e antimicrobianos. Sobre estes dois últimos, cumpre lembrar que são assuntos de que tratamos anteriormente e que aqui encontram uma câmara de ressonância.

O paradoxo de toda esta realidade é que ao mesmo tempo em que milhões padecem no continente africano, ou nas periferias brasileiras, ou em algum outro canto do mundo por falta de acesso aos bens e produtos advindos da biotecnologia, como um diagnóstico básico ou um medicamento simples, ao mesmo tempo, outros padecem nas UTIs dos centros médicos de países ricos por excesso de biotecnologia, a chamada distanásia. É neste contraste entres aqueles sofrem pelo excesso extremo e aqueles que sofrem pela falta absoluta que se situa o debate sobre as escolhas que haveremos de fazer sobre edição gênica e sobre CRISPR.

### **2.3.2 Regulação internacional e acompanhamento das pesquisas de edição genética**

Um desses fatores é a rapidez com que, atualmente, eventos como as pandemias com impactos imediatos sobre a vida das populações e sobre a economia dos países podem ampliar seu escopo de incidência. Países de

menor desenvolvimento e com grandes segmentos humanos vivendo em condições precárias, não dispõem de sistemas de saúde capazes de arcar com impactos significativos desses eventos. Ainda que existam condições para remediação dos agravos provocados, o acesso a vacinas e medicamentos não é garantido aos países com capacidade de inovação e produção limitadas ou inexistentes, ainda que possam contornar as restrições colocadas por problemas de propriedade industrial. (Cardoso *et al.*, 2008, p. 567).

Uma questão central que emerge de todo o debate que vem sendo feito em torno das questões relativa a edição gênica, seja ela pelo viés das implicações na linhagem germinativa humana ou pelo viés da ferramenta molecular CRISPR, é saber se os instrumentos normativos internacionais (convenções, tratados, pactos e acordos) são adequados e suficientes para regular o uso da ferramenta para fins de P&D e para os produtos que dela advenham, bem como para coibir o seu uso inapropriado, indevido ou não ético; a outra questão é saber se tais instrumentos são efetivos, ou seja, se conseguem intervir positivamente na realidade concreta, do que decorre saber se os organismos internacionais dispõem de condições reais e instrumentos de acompanhamento destas pesquisas.

Trataremos aqui de apenas alguns elementos para formar um quadro parcial da questão da regulação que nos ajuda a formular o nosso debate, mas cumpre advertir que o tema é muito mais abrangente e complexo do que iremos apresentar, avança para além do escopo de nosso objetivo e por mais interessante e rico que seja o tema, não poderemos ceder à sua tentação. Para cumprir esta tarefa, vamos montar um rápido painel sobre o que a comunidade científica tem discutido a respeito, o que tem sido debatido em alguns dos tribunais, por onde tem evoluído as pesquisas e, por fim, avaliar algumas questões referentes aos pactos, tratados, acordos e convenções internacionais com as quais CRISPR-Cas se relaciona.

Com efeito, é justo reconhecer o notável esforço de cientistas e instituições de vários países em trazer o debate a público, lançando mão tanto de publicações especializadas como de espaços em publicações populares, no propósito de mobilizar também o grande público. Nessa perspectiva, vários pesquisadores têm se organizado em grupos de discussão e realizado debates e eventos, num movimento coletivo intenso para construir um caminho que possa, de um lado garantir que as pesquisas, sobretudo a pesquisa básica, não resvalam em barreiras regulatórias e continuem avançando e de outro, prevenir usos eticamente inaceitáveis, ainda que no mérito tais entendimentos sejam passíveis de discussão.

Duas questões importantes são recorrentes nos debates: 1º a posição quase hegemônica, salvo raras exceções, de que há uma divisão intransponível entre edição em linhagem somática e linhagem germinativa e, 2º a preocupação com as gerações futuras se restringe, em geral, a edição em linhagem germinativa e esta, basicamente à espécie humana. (Baltimore, Berg, *et al.*, 2015; Charpentier, 2015; Dujon, 2017; Porteus e Dann, 2015; Reardon, 2016; Reyes e Lanner, 2017). Esta perspectiva induz o debate por um caminho nitidamente antropocêntrico, que de partida exclui várias questões relevantes que discutimos nos capítulos anteriores, modula o debate por um viés minimalista e, do ponto de vista regulatório, tende a produzir resultados enviesados e até indesejados.

Lanphier *et al.* (2015) chama a atenção que na Europa Ocidental por exemplo, 15 dos 22 países proíbem a edição em linhagem germinativa humana. Nos Estados Unidos da América, embora não exista uma proibição explícita, as agências públicas de fomento não financiam pesquisas nessa área. Na mesma linha, o NIH - *National Institutes of Health* dos EUA também não financia pesquisas que façam uso de tecnologias de edição genética em embriões humanos. (Collins, Francis, 2015). Registramos a seguir o posicionamento público de várias instituições e grupos acerca da edição em linhagem germinal com uso de ferramentas moleculares, em especial CRISPR-Cas.

A Sociedade Americana de Terapia Genética e Celular (ASGCT- *American Society for Gene and Cell Therapy*) e a Sociedade Japonesa de Terapia Gênica (JSGT-*Joint Position Statement on Human Genomic Editing*) publicaram em 2015 uma manifestação conjunta na revista *American Society of Gene & Cell Therapy* na qual manifestam posição contrária a edição em linhagem germinativa humana, sem menção a outras espécies, apesar de os problemas apontados serem pertinentes a todas elas:

Nossas sociedades consideram que essas preocupações éticas e de segurança são suficientemente sérias para sustentar uma postura forte contra a edição genética ou modificação genética de células humanas para gerar zigotos humanos viáveis com modificações germinativas hereditárias. Mesmo com os avanços técnicos que podem eventualmente resolver os problemas de segurança e de mosaicismo, nossas Sociedades concluem que não há formas eticamente aceitáveis de realizar edição de genes embrionários ou outras modificações germinativas, porque os resultados de tais experimentos não são suscetíveis a avaliações de longo prazo em uma escala de tempo razoável. Por estas razões, as nossas Sociedades apoiam uma forte proibição da edição de genes da linha germinativa humana ou de outras modificações genéticas de linha germinal, a menos e até que estes problemas técnicos e éticos possam ser resolvidos, ampla e profundamente discutidos,

e um consenso social alcançado. (Friedmann *et al.*, 2015, p. 1, tradução nossa).

Sobre a manifestação acima, Vassena *et al.* (2016), citando Watts *et al.* (2012) e Haites e Lovell-Badge (2011), argumentam que: “embora esta seja uma preocupação séria, não precisa resultar em uma proibição. Estudos em animais, pesquisa precoce com embriões humanos e acompanhamento a longo prazo podem ser o melhor que podemos fazer”. (Vassena *et al.*, 2016, p. 416, tradução nossa).

Fruto do esforço do Comitê Organizador da Cúpula Internacional sobre Edição de Genes Humanos (*Organizing Committee for the International Summit on Human Gene Editing*), que havia publicado um manifesto no site da Academias Nacionais de Ciências, Engenharia e Medicina (*The National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine*) sob o título “Sobre a edição de genes humanos: Declaração da Cúpula Internacional” (*On Human Gene Editing: International Summit Statement*) - a que nos referimos anteriormente (Baltimore, Baylis, *et al.*, 2015) -, reuniram-se em Washington, no mês de dezembro 2015, em torno de 500 cientistas, bioeticistas, advogados, especialistas em direitos humanos e pacientes portadores de doenças raras, entre outros, oriundos de mais de 20 países diferentes, para finalmente participarem da Cúpula Internacional sobre Edição de Genes Humano (*International Summit on Human Gene Editing*) organizada pela *US National Academies of Sciences and Medicine*, *Royal Society in London* e pela *Chinese Academy of Sciences*, com o propósito de promover um amplo debate entre a ciência e a sociedade e produzir diretrizes para o uso de edição genética em seres humanos. Ao final de três dias de trabalho, foi divulgada por seus organizadores uma declaração de posição que não condenou tais experimentos, mas alerta que diversas questões relacionadas a aspectos éticos e de segurança precisam ser superadas antes que embriões possam ser modificados por meio de aplicações clínicas. A correspondente da revista *Nature*, Reardon, registra que: “apesar das diferenças sobre até onde ir para aplicar a edição de genes aos nascituros, quase todos na reunião concordaram que os esforços para usar a edição de genes após o nascimento para corrigir defeitos em células não-reprodutivas devem continuar”, e conclui que “o encontro serviu como um lembrete poderoso de quão distante a engenharia genética está de permear a sociedade”. (Reardon, 2015, p. 173, tradução nossa).

The Hinxton Group, composto por algumas reconhecidas instituições norte-americanas, entre as quais *The Johns Hopkins Berman Institute of Bioethics*, *The*

*University of Manchester Institute for Science, Ethics and Innovation e The University of Manchester Institute of Biotechnology* publicou posicionamento de sua diretoria sobre o tema que reflete o pensamento de vários pesquisadores: não apoia a edição do genoma humano para fins reprodutivos clínicos neste momento, no entanto considera aceitável o desenvolvimento e pesquisa básica que possa produzir aplicações para reprodução humana segura. Mesmo admitindo que algumas dessas pesquisas possam ser consideradas moralmente preocupantes, entende que podem ser cientificamente defensáveis. Neste sentido, apoia o uso de células-tronco espermatogônias, gametas e embriões humanos cultivados *in vitro*, sujeitos à regra dos 14 dias<sup>60</sup>. Nos argumentos, justifica que “qualquer experimento deve primeiro atender ao critério de validade científica”. (The Hinxton Group, 2015, p. 4, tradução nossa). Outro ponto que chama a atenção se refere aos legisladores e gestores públicos: “os formuladores de políticas devem abster-se de restringir a investigação científica, a menos que haja uma justificativa substancial para fazê-lo que ultrapasse as divergências baseadas apenas em convicções morais divergentes”. (The Hinxton Group, 2015, p. 6, tradução nossa). O destaque a que nos referimos é ao uso de termo “apenas” que somado ao critério supracitado parece restaurar uma certa hierarquia de valores que, salvo melhor juízo, nossa sociedade contemporânea já teria superado há muito tempo.

Outro grupo do qual participam instituições do continente europeu, basicamente Reino Unido, composto por *The Academy of Medical Sciences, Association of Medical Research Charities, BBSRC, Medical Research Council e Wellcome Trust*, entre outros, reconhece a possibilidade futura de edição do genoma em células germinativas humanas ou embriões para fins clínicos. (The Academy of Medical Sciences *et al.*, 2015). Vassena *et al.* (2016) chama a atenção para a decisão com efeito prático imediato do parlamento do Reino Unido que recentemente decidiu autorizar a aplicação de substituição mitocondrial, fusiforme ou pronuclear, que na prática se constitui em modificação germinativa, tema que já nos referimos

---

<sup>60</sup> A citada regra dos 14 dias se refere à fase da embriogênese denominada de mórula, em que o embrião em formação tem a aparência que lembra uma amora, daí o nome. A mórula é composta por um conjunto de 8 a 16 células, das quais a parte externa (trofoblasto) irá formar a placenta e a parte interna (embrioblasto) o embrião propriamente dito. Nessa fase também ocorre a migração do zigoto pela tuba uterina em direção ao útero. A referida regra se baseia no fato de que até esta fase não há outra diferenciação celular, de modo que as células estaminais, ou células-tronco embrionárias ou células totipotentes se encontram em sua forma mais primitiva, portanto destituído de sistema nervoso, que irá se formar somente após esta fase.

anteriormente e que, sob certas condições, produz efeitos transgeracionais. (Callaway, 2016). Segundo Mathews *et al.* (2015), a edição de células germinativas no momento da fecundação, ou logo após, atualmente seria possível apenas em oito países onde se permite a criação de embriões especificamente para pesquisa: Bélgica, China, Israel, Japão, Cingapura, Coreia do Sul, Reino Unido e Estados Unidos, este último, consoante já citamos, apenas com recursos oriundos de fundos não federais. No entanto o quadro regulatório de país a país parece ser bem mais incerto e suscetível a interpretações dúbias do que poderia ou deveria ser. (Ledford, 2015b).

Há uma discussão interessante que precisamos, mas não iremos fazer neste momento, vez que ainda não discutimos os fundamentos éticos que devem sustentá-la, por isso nos limitaremos aqui a apontar alguns elementos que deveremos resgatar mais adiante. Este conjunto de posicionamentos coletivos, que no geral parecem não divergir da maioria das manifestações individuais sobre o tema, sugerem que, salvo melhor juízo, há pontos em comum em vários dos aspectos gerais e algumas dissonâncias quanto à forma ou quanto ao tempo, senão, vejamos:

1º há uma ampla concordância em que existe uma diferença fundamental entre edição em linha germinal humana e não humana, muito embora não esteja claro a natureza desta diferença, se moral, biológica, genética ou outra qualquer; sendo que que apenas a linha germinal humana deve ser preservada nesse momento;

2º salvo raras exceções, é quase hegemônica a posição de que para fins de edição gênica, a barreira entre linha germinal e somática é intransponível (conforme citamos anteriormente);

3º em decorrência desta barreira, para uma ampla maioria, a pesquisa gênica em linhagem somática não está afeta à discussão deste momento e deve prosseguir normalmente, como já vinha sendo feito até agora, observadas as ressalvas regulatórias vigentes e éticas já amplamente debatidas desde e a partir de Asilomar;

4º no geral, há uma ampla concordância de que a pesquisa de edição em linhagem germinativa humana não deve ser feita neste momento; a dissonância reside no fato de que alguns consideram que a vedação deve ser ampla, ao menos até que os problemas de segurança (como por exemplo a edição fora do alvo e mosaicismos) sejam superados. Outros consideram que apenas as pesquisas de aplicação clínica ou que possam produzir embriões viáveis, que sejam levados a termo, devem ser momentaneamente interrompidas;

5º apesar de algumas referências de caráter mais geral sobre possíveis impactos negativos que a pesquisa com CRISPR-Cas possa ocasionar ao meio ambiente, em geral este não é um tema que recebeu destaque, aparecendo de maneira eventual, apenas no nível dos argumentos.

Evidentemente que estes apontamentos se baseiam nos documentos publicados, que em geral são sínteses de longas discussões, algumas realizadas no decorrer de meses de trabalho, com participação de especialistas de diversas áreas, de modo que certamente eclipsam a riqueza, a amplitude e a profundidade dos debates, de modo que o resumo que apontamos pode equidistar em alguma medida não só em conteúdo mas também em análise, uma vez que não alcança o que está além do publicado. De toda forma, essa eventual riqueza dos debates não se traduziu nas deliberações.

A ressalva feita no item 2º acima diz respeito às poucas manifestações dissonantes, como a de George Church, registrada em matéria do MIT Technology Review:

Church diz que o artigo publicado na revista Nature [(Lanphier *et al.*, 2015)] erra ao assumir que a terapia genética usada em adultos, conhecido como terapia genética somática, não terá consequências para as gerações futuras. Ela poderia sim afetá-los, diz ele, através dos chamados efeitos epigenéticos que mudam a forma como os genes são expressos. (Regalado, 2015).

Isso por si só não nos é novidade, uma vez que tratamos no Apêndice B do tema epinegética e outras questões relacionadas, no entanto, o complemento do texto tem tanta relevância quanto a parte acima: “Se isso for verdade, uma moratória do tipo que Lanphier pediu poderia afetar sua própria empresa e cerca de 2.000 outros ensaios clínicos em andamento”. (Regalado, 2015).

Olhar do ponto de vista dos territórios globais, a partir de onde a pesquisa com CRISPR se desenvolve, pode ser um outro exercício interessante para a análise das questões relativas a regulação, sob vários aspectos. Por exemplo, a partir da informação de onde o conhecimento técnico está concentrado é possível prever de onde partirão os produtos e benefícios desta biotecnologia, do que decorre que é nesses locais onde o debate sobre regulação tem maior impacto na pesquisa, e onde os conflitos de interesses emergem com maior intensidade, a exemplo do caso C-528/16 julgado na Corte de Justiça da União Europeia que citamos anteriormente e que ainda falaremos mais um pouco logo a seguir. (Court of Justice of the European Union, 2018). Eventualmente, este mesmo mapa, que é um mapa de territórios do



conhecimento em edição com CRISPR-Cas, reflete em boa medida, um mapa geoeconômico e geopolítico, vide Figura 5. (Lander, 2016).

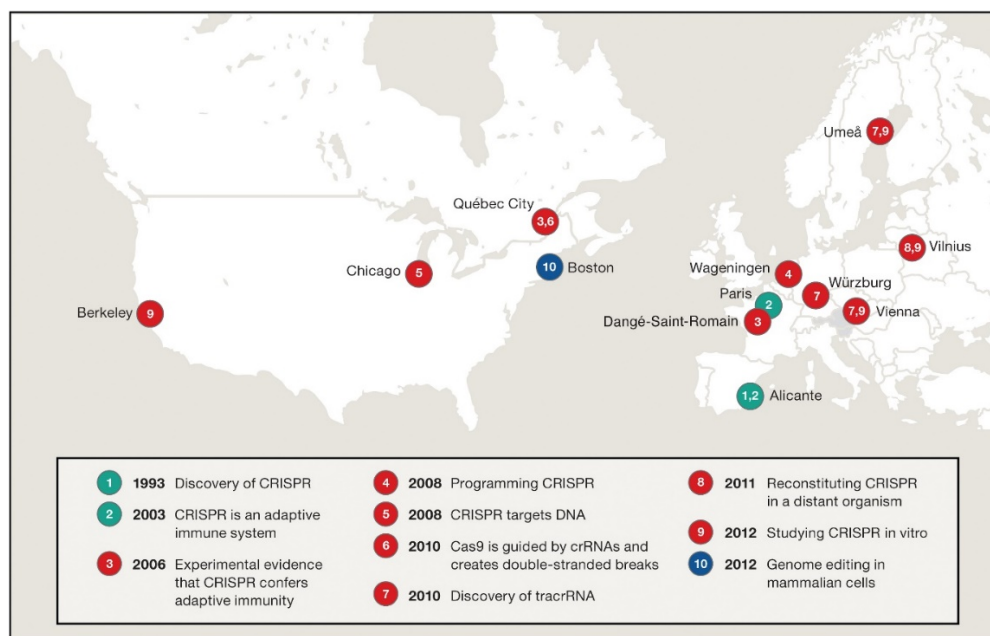


Figura 5 - A história de vinte anos de CRISPR desdobrada em doze cidades e em nove países\*. Fonte: Lander (2016).

\* No mapa estão assinalados os locais onde o trabalho principal com CRISPR ocorreu e as primeiras datas de submissão dos trabalhos. A conformação de cores reflete o processo evolutivo do conhecimento: círculos verdes indicam a descoberta precoce do sistema CRISPR e da sua função; vermelho indicam as pesquisas de caracterização genética, biológica molecular e bioquímica; e azul apontam a etapa final da engenharia biológica que resultaram na edição do genoma, adaptado de Lander (2016).

Outro aspecto do debate em torno da regulação da biotecnologia CRISPR-Cas, desta feita mais ligado a agricultura, diz respeito a se saber se organismos editados com essa tecnologia se equiparam aos tradicionais OGMs e, portanto, estão sujeitos aos mesmos instrumentos regulatórios e processos de controle, fiscalização e liberação para produção, comércio e consumo. Se a resposta for sim, já se teria um conjunto normativo importante e em tese suficiente para regular o uso de CRISPR-Cas, ainda que eventualmente pudesse haver a necessidade de uma revisão no sentido de atualizar estes instrumentos em face de características específicas da nova tecnologia. Se a resposta for não, em tese não estariam sujeitos às mesmas normas, consideradas excessivas pelo setor bioindustrial, produtores rurais e comerciantes que lidam com OGMs, sendo em princípio suficiente tão somente o conjunto normativo que atualmente já regula a pesquisa.

Nesta seara, um primeiro embate teve desfecho no âmbito da Comunidade Europeia e poderá influenciar outras regiões. Em julho de 2018, a Corte de Justiça da União Europeia, em Luxemburgo, no julgamento do caso C-528/16, já mencionado, que tratou da disputa entre “*Confédération paysanne and Others v Premier ministre and Ministre de l’Agriculture, de l’Agroalimentaire et de la Forêt*” (“Confederação dos Agricultores e Outros v Primeiro Ministro e Ministro da Agricultura, Agroalimentar e Florestal”), publicou comunicado à imprensa de nº 111/18, para divulgar a decisão de que:

“os organismos obtidos por mutagênese são OGM e estão, em princípio, sujeitos às obrigações estabelecidas pela Diretiva OGM<sup>61</sup> [...] na medida em que as técnicas e os métodos de mutagênese alteram o material genético de um organismo numa maneira que não ocorre naturalmente [além disso] a modificação direta do material genético de um organismo através da mutagênese permite obter os mesmos efeitos que a introdução de um gene estranho no organismo”. (Court of Justice of the European Union, 2018, p. 1–2, tradução nossa).

Esclarece o comunicado que mutagênese, no entendimento da corte: é um conjunto de técnicas que permitem alterar o genoma de uma espécie viva sem a inserção de DNA estranho, o que inclui CRISPR-Cas9. Este entendimento estabelece a diferença daquele atribuído a transgenia - na qual uma espécie recebe parte do material genético de outra - e que se desenvolveu ao longo das últimas décadas, a partir da tecnologia do DNA recombinante, para implementar extensiva monocultura de soja, milho e outros produtos agrícolas em diversos países como o Brasil, e para as quais as regras europeias são consideradas comercialmente altamente restritivas. Na decisão, a corte excluiu da obrigação de conformidade à Diretiva OGM os “organismos obtidos por meio de determinadas técnicas de mutagênese, nomeadamente as que foram convencionalmente utilizadas em diversas aplicações e têm um longo histórico de segurança”. (Court of Justice of the European Union, 2018, p. 1–2). Ao final, se estabelece o princípio ético que fundamenta a decisão:

Tendo em conta estes riscos partilhados, excluir os organismos obtidos por novas técnicas de mutagênese do âmbito de aplicação da Diretiva OGM comprometeria o objetivo perseguido por esta Diretiva, que é evitar os efeitos negativos para a saúde humana e o meio ambiente, além de não respeitar o

---

<sup>61</sup> Dentre as diretivas estabelecidas pela Comunidade Europeia para OGM consta a exigência de que os mesmos, para fins de plantio e comercialização, necessitam de autorização que será precedida de avaliação dos riscos que representam para a saúde humana e o meio ambiente, sujeitando-os igualmente às obrigações de rastreabilidade, rotulagem e vigilância”. (Court of Justice of the European Union, 2018, p. 1).

princípio da precaução, princípio que esta Diretiva pretende aplicar. (Court of Justice of the European Union, 2018, p. 2, tradução nossa).

Stokstad (2018), logo em seguida, em matéria na revista *Science*, registrou algumas das posições antagônicas pró e contra a decisão da corte, na qual termos como “decisão progressista”, “golpe mortal”, “intensa e negativa” e “completamente incorreto” dão o tom acirrado do debate, da distância que existe entre a sociedade e a ciência e do abismo estabelecido entre os interesses comerciais e seus consumidores.

Ainda no mesmo ano de 2015 (um ano efervescente e de muitos debates sobre CRISPR-Cas), no mês de setembro, a Unesco realizou na sua sede em Paris sessão conjunta que reuniu a 9ª Sessão (Ordinária) da Comissão Mundial sobre Ética do Conhecimento Científico e Tecnologia - COMEST e a 22ª Sessão (Ordinária) do Comitê Internacional de Bioética - IBC, ambos órgãos consultivos da entidade. (ONU - UNESCO, 2015b). No evento o IBC, em resposta aos rápidos avanços na genética e na genômica, e levando em conta a Declaração Universal sobre o Genoma Humano e os Direitos Humanos (1997), (UNESCO, 2001), a Declaração Internacional sobre Dados Genéticos Humanos (2003), (UNESCO, 2004) e a Declaração Universal sobre Bioética e Direitos Humanos (2005), (UNESCO, 2005a), e a partir da observação de que há uma “falta de consciência ética, bem como de marcos regulatórios nacionais e internacionais eficazes” (Bioethics Committee, 2015, p. 5), divulgou extenso e minucioso relatório intitulado “Atualizando sua Reflexão sobre o Genoma Humano e os Direitos Humanos”, produzido por um painel de especialistas do órgão (IBC - UNESCO, 2015), onde são avaliados cinco grandes temas relacionados a biotecnologia<sup>62</sup>, incluindo a edição do genoma mediado por CRISPR e propõe a adoção de uma moratória temporária para a edição genética em linhagem germinativa humana, bem como que se promova amplo debate público sobre modificações no DNA humano. (ONU - UNESCO, 2015a).

O relatório destaca cinco princípios éticos e desafios decorrentes dos avanços na área da genética e da biotecnologia ligada ao genoma, dos quais destacamos

---

<sup>62</sup> Os temas são: a) testes genéticos disponíveis diretamente ao consumidor e análise não relacionada à assistência à saúde; b) Medicina de precisão/personalizada; c) Biobancos; d) Teste pré-natal não invasivo; e) Técnicas emergentes de engenharia de gametas e edição do genoma humano. (IBC - UNESCO, 2015).

três<sup>63</sup>: 1º justiça e solidariedade : que os avanços a serem conquistados devem ser compartilhados com a sociedade como um todo e com a comunidade internacional, e em vista de se evitar qualquer discriminação<sup>64</sup>; 2º contexto cultural, social e econômico da ciência: diante da globalização, do amplo acesso a informação e do crescente pluralismo, há a necessidade de se promover uma reflexão mais profunda sobre valores, significado e direção da ciência, incluindo também a necessidade de um quadro jurídico que a conforme com o respeito aos direitos humanos fundamentais<sup>65</sup> e, 3º responsabilidade para com as futuras gerações: requer grande atenção especificamente para com o campo da edição do genoma<sup>66</sup>. (IBC - UNESCO, 2015). A partir da consideração destes pontos, o relatório apresenta um conjunto de recomendações que incluem alguns temas sobre os quais, conforme citamos anteriormente, já se tem algum consenso construído: basicamente a necessidade de um instrumento internacional, juridicamente vinculativo para proibir a clonagem humana para fins reprodutivos e uma moratória para edição em linhagem germinativa humana, até que a segurança e a eficácia dos procedimentos sejam adequadamente comprovadas para uso terapêutico. Além disso, avança em importantes aspectos vinculados, dentre eles uma recomendação para que Estados e governos adotem medidas legislativas a fim de “organizar sistemas de saúde, para que as novas oportunidades oferecidas pela medicina de precisão/personalizada sejam compartilhadas com a sociedade como um todo, sem se tornar uma nova fonte de desigualdade e discriminação”. (IBC - UNESCO, 2015, p. 4, tradução nossa).

Em face do que vimos até aqui, incluindo as disputas de patentes, que imprime uma dinâmica muito particular no modo de fazer ciência e de compartilhar os seus resultados, chama especial atenção o item que recomenda que a comunidade de cientistas e órgãos reguladores:

---

<sup>63</sup> Os outros dois princípios éticos e desafios apontados no referido documento são: - respeito à autonomia e privacidade: os dados genéticos do indivíduo fazem parte dos seus dados pessoais e devem ser protegidos; - compreensão da doença e da saúde: deve ser levado em conta que o conhecimento da herança genética individual pode afetar profundamente o seu portador; além disso não se deve subestimar a complexidade dos fatores que concorrem para a saúde; mormente a influência crucial que as determinantes comportamentais, sociais e ambientais desempenham na determinação da mesma. (IBC - UNESCO, 2015).

<sup>64</sup> Em consonância com o art. 2º, inciso “f”, da Declaração Universal sobre Bioética e Direitos Humanos. (UNESCO, 2005a).

<sup>65</sup> Em consonância com o art. 2º, incisos “a” e “d” e por conexão, também os incisos “b”, “c”, e “e” da Declaração Universal sobre Bioética e Direitos Humanos. (UNESCO, 2005a).

<sup>66</sup> Em consonância com o art. 2º, inciso “g” e por conexão, também o inciso “h” da Declaração Universal sobre Bioética e Direitos Humanos. (UNESCO, 2005a).

“renunciem a possibilidade de agir sozinhos em relação a engenharia do genoma humano e aceitem cooperar no estabelecimento de um padrão global compartilhado para esse fim, com base nos princípios estabelecidos na Declaração Universal sobre o Genoma Humano e os Direitos Humanos e na Declaração Universal sobre Bioética e Direitos Humanos. (IBC - UNESCO, 2015, p. 4, tradução nossa)

Tal recomendação é complementada por outra, dirigida aos atores econômicos e empresas com fins lucrativos, para que se abstenham de “contornar as restrições em um determinado país, a fim de aproveitar as regras mais fracas em outros países para maximizar o lucro”, vez que o “genoma humano é uma das premissas da liberdade em si e não simplesmente matéria-prima. (IBC - UNESCO, 2015, p. 4, tradução nossa).

Por fim, o relatório afirma que as Nações Unidas, por meio de suas diversas agências e órgãos, bem como de outros procedimentos de consulta e avaliação dos avanços da pesquisa, devem assumir responsabilidade para tomar decisões normativas fundamentais (IBC - UNESCO, 2015), e talvez aqui resida um dos problemas centrais da questão da regulação internacional, que se tornou mais aguda neste momento em razão do rápido avanço das pesquisas com CRISPR-Cas em face dos problemas já apontados.

A respeito de saber se os instrumentos internacionais são efetivos, ou seja, se conseguem intervir positivamente na realidade concreta, haveremos de fazer algumas considerações a partir do que já expusemos. O principal organismo internacional a partir do qual o mundo e os países convencionaram construir consensos em tempos de paz e de guerra é a ONU. Além destes existem organismos regionais como a OTAN - Organização do Tratado do Atlântico Norte e a OEA – Organização dos Estados Americanos, esta última, cujo principal organismo é a CIDH – Comissão Interamericana de Direitos Humanos, da qual deriva o seu órgão julgador que é a Corte Interamericana de Direitos Humanos. Os consensos se traduzem em instrumentos orientativos, sobre os quais há uma aceitação tácita dos países membros - a exemplo da Declaração Universal de Direitos Humanos (ONU, 1948), a Declaração Universal sobre o Genoma Humano e os Direitos Humanos (UNESCO, 2001), a Declaração Internacional sobre os Dados Genéticos Humanos (UNESCO, 2004) e a Declaração Universal sobre Bioética e Direitos Humanos (UNESCO, 2005b) - e por instrumentos normativos de caráter regulatório sobre os quais há necessidade de aceitação explícita através da adesão voluntária, tais como os tratados, pactos e acordos, a exemplo da Convenção de Genebra, do Protocolo de Kyoto a da

Convenção-Quadro das Nações Unidas sobre a Mudança do Clima e do Pacto de San Jose da Costa Rica, os três primeiros do sistema ONU e o último do sistema OEA. Por outro lado, cada país tem suas leis internas baseadas em princípios, valores e cultura muito diferentes entre si, e não raras vezes divergentes. Disto decorre dissonâncias e incompatibilidades entre os instrumentos internacionais e as leis internas dos países. Nestes casos, a adesão a cada instrumento internacional em particular implica, obrigatoriamente, em renúncia ao direito interno naquilo em que com o mesmo colide. Ocorre que as demandas levadas ao sistema ONU ou OEA, por exemplo, não são todas resolvidas da mesma maneira. Evidentemente que a natureza das demandas (comerciais, direitos fundamentais, etc.) por si só requerem tratamentos diferenciados. No entanto, há uma prática recorrente por parte dos Estados-parte de descumprimento de determinados instrumentos pactuados, inclusive os de adesão voluntária, como é o caso das questões relacionadas a violações de Direitos Humanos que citamos anteriormente (envolvendo tráfico humano, tortura, guerras, migrações, etc.). As justificativas dos Estados-parte vão desde a simples ausência de justificativa a alegação da prevalência da autonomia e independência das leis internas em relação ao pactuado. Para dar materialidade ao problema, trazemos o exemplo do caso brasileiro que tramita na Corte Interamericana de Direitos Humanos conhecido como Caso Gomes Lund<sup>67</sup>. Sob a égide do Pacto de San Jose da Costa Rica<sup>68</sup> (OEA, 1967), a Corte Interamericana de Direitos Humanos,

---

<sup>67</sup> O caso Gomes Lund, também conhecido como caso Guerrilha do Araguaia, se refere a uma operação do Exército Brasileiro na região do Araguaia, localizada no limite dos estados do Maranhão, Pará e atual Tocantins, entre os anos de 1974 e 1976, para a caça e execução sumária de 70 militantes do Partido Comunista do Brasil (PCdoB) que haviam se refugiado naquela região para organizar um movimento de resistência armada contra a ditadura civil-militar, que vigia desde o golpe de estado de 1964. Na operação militar, segundo relatos, o exército empregou perto de 5 mil homens, grande quantidade de armamentos, equipamentos e aeronaves de guerra para combate em selva, tendo feito uso inclusive de bombas de Napalm. Em 1995 os familiares dos militantes mortos e desaparecidos, dada a omissão e ausência de respostas por parte do governo brasileiro, impetraram demandas junto a Comissão Interamericana de Direitos Humanos (OEA), uma delas se referia a vítima Gomes Lund. A demanda, primeiramente apresentada ao governo brasileiro pretendia obter esclarecimentos sobre as circunstâncias da morte e localização dos restos mortais dos militantes para a efetivação do direito humanitário e religioso de sepultamento digno dos corpos, direito este que a sociedade humana cultua a milhões de anos, talvez desde a época em que nossos antepassados tinham um cérebro de apenas quinhentas gramas. (Brasil, 2014a; Tosi *et al.*, 2015).

<sup>68</sup> O Brasil fez a adesão voluntária ao Pacto de San Jose da Costa Rica em 1969, portanto com muita antecedência a promulgação da Constituição Brasileira de 1988. No entanto, somente em 1992 o Brasil o ratificou, através do Decreto nº 678 (disponível em <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto/D0678.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/D0678.htm)>), e apenas em 1998 reconhece como obrigatória a jurisdição contenciosa da Corte Interamericana. Por força do dispositivo pactuado, dos demais instrumentos normativos internacionais vinculativos e da própria tradição internacional, as

que já havia condenado o Brasil em julgamento anterior no mesmo caso, se insurgiu contra a recusa do Brasil em reconhecer a sua jurisdição e a não adequação do direito interno aos tratados internacionais sobre Direitos Humanos, em sua sentença prolatada no caso em tela, referindo-se à Lei de Anistia (OEA-Corte Interamericana de Direitos Humanos, 2010; OEA - Comissão Interamericana de Direitos Humanos, 2009), nos seguintes termos:

A Corte Interamericana considera que [...] o Estado [Brasil] descumpriu sua obrigação de adequar o seu direito interno, consagrada no artigo 2 da Convenção Americana.

A Corte considera necessário enfatizar que, à luz das obrigações gerais consagradas nos artigos 1.1 e 2 da Convenção Americana, os Estados-parte tem o dever de adotar as providências de toda índole, para que ninguém seja privado da proteção judicial e do exercício do direito a um recurso simples e eficaz, nos termos do artigo 8 e 15 da Convenção..

[...] Dada a manifesta incompatibilidade com a Convenção Americana, as disposições da Lei de Anistia que impedem a investigação e sanções de graves violações de direitos humanos carecem de efeitos jurídicos [...] nem podem ter igual ou similar impacto sobre outros casos de graves violações de direitos humanos consagrados na Convenção Americana ocorridos no Brasil. (Tosi *et al.*, 2015, p. 145–146).

Com efeito, o Brasil não cumpriu a sentença da corte, nem no que se refere à localização dos corpos dos desaparecidos políticos, nem no que se refere a investigação do caso e punição dos militares envolvidos no massacre, tampouco no que se refere à adequação da Lei de Anistia às normas internacionais. Curiosamente, apesar de o Supremo Tribunal Federal não haver acolhido adequadamente a sentença da Corte acima citada, em julgamento de caso diverso, mas que também evocava o direito internacional em matéria de Direitos Humanos, Recursos Extraordinários n.º 349.703, o ministro relator do caso no Supremo Tribunal Federal, se manifestou da seguinte forma:

A propósito, defendendo a interpretação da constituição alemã pela prevalência do direito internacional sobre as normas infraconstitucionais, acentua o professor Klaus Vogel que 'de forma crescente, prevalece internacionalmente a noção de que as leis que contrariam tratados internacionais devem ser inconstitucionais e, conseqüentemente, nulas <sup>69</sup>. (Mendes, 2009).

---

sentenças da Corte, assim como das demais cortes internacionais, são consideradas definitivas, autoaplicáveis e inapeláveis. (Brasil, 2014a; OEA, 1967; Tosi *et al.*, 2015).

<sup>69</sup> STF. AC 2436 MC/PR - Paraná, incidental ao RE nº 460.320, julgada em 03/09/2009, publicada em 15/09/2009. (Decisão Monocrática do Ministro Relator. Gilmar Mendes).

Ao tratar da alegada prevalência das leis internas sobre o direito internacional, o ministro assim argumenta:

Importante deixar claro, também, que a tese da legalidade ordinária, na medida em que permite às entidades federativas internas do Estado brasileiro o descumprimento unilateral de acordo internacional, vai de encontro aos princípios internacionais fixados pela Convenção de Viena sobre o Direito dos Tratados, de 1969, a qual, em seu art. 27, determina que nenhum Estado pactuante “pode invocar as disposições de seu direito interno para justificar o inadimplemento de um tratado”. (Mendes, 2009)

De fato, a análise de Tosi *et al.* (2015) do problema da prevalência do *direito internacional* sobre *leis internas* em matéria de Direitos Humanos é singularmente importante e representativo, vez que parte da comparação de dois casos concretos. Submetidos a julgamento em tribunal internacional (ambos na Corte Interamericana de Direitos Humanos), tiveram desdobramentos bastante distintos no âmbito do Supremo Tribunal Federal do Brasil.

O primeiro caso diz respeito a ADPF 153, que discutiu a interpretação da Lei de Anistia, com vista a persecução penal e na qual o STF decidiu que crimes de lesa humanidade praticados por militares durante a vigência da ditadura civil-militar brasileira estavam anistiados pela referida Lei, em flagrante revelia ao Pacto de San José da Costa Rica e às decisões da Corte Interamericana de Direitos Humanos. No fundamento da decisão de não cumprir nem o Pacto, nem o julgado pela Corte no caso Gomes Lund, situou-se o argumento da prevalência das leis internas sobre os tratados e acordos internacionais.

O segundo caso diz respeito a prisão civil de depositário infiel, Ribamar Ramos Costa (HC87.585/TO e RE 466.343/SP), no qual consta como recorrente: Banco Bradesco S/A. Neste o STF decidiu pelo acolhimento da decisão da referida norma internacional, mas não pelo reconhecimento de sua prevalência sobre o direito interno ou pelo dever de cumprir decisão da corte internacional, mas por um artifício de interpretação da legislação interna:

A solução encontrada do STF para dirimir a antinomia clara entre a Convenção e a própria Constituição brasileira, tanto nos casos citados acima como em outros que se seguiram, foi estabelecer duas importantes inovações. A primeira delas significou a mudança da jurisprudência que delimitava a estatura de mera lei ordinária aos tratados de direitos humanos. Vingou na opinião majoritária de 5 ministros a tese da *supralegalidade* dos tratados de direitos humanos, isto é, são superiores às leis ordinárias, mas inferiores à Constituição, ainda que façam parte de um bloco de constitucionalidade por especificarem direitos fundamentais referidos no texto constitucional. [...] De todo modo, a adoção da *supralegalidade* dos tratados de direitos humanos não impediu, no caso da prisão do depositário infiel que



se desse preferência à Convenção Americana de Direitos Humanos em relação à Constituição Brasileira. E esta é a segunda inovação. O fundamento adotado para tanto foi o princípio da aplicação da norma mais favorável em direitos humanos, ainda que em um engenho de argumentação se tenha estabelecido que tal predomínio não necessariamente revoga a norma constitucional restritiva, mas impede que norma infraconstitucional lhe dê eficácia. Desse modo, ao mesmo tempo em que o STF afirmou que a Constituição vale mais que o tratado, assegurou que o tratado valesse mais do que qualquer lei ordinária e no caso de norma mais favorável, impedisse a regulamentação de dispositivo constitucional, prevalecendo inclusive sobre norma constitucional originária. (Tosi *et al.*, 2015, p. 142).

De fato, a solução encontrada para o segundo caso não criou sequer uniformidade para o tratamento do primeiro que persiste sem solução:

Tal posicionamento causa espécie quando se vislumbra a decisão do STF sobre o *status* da Lei de Anistia de 1979. A suprema corte brasileira, embora não o declare explicitamente da decisão ADPF 153, conferiu prevalência à Lei nº 6683/1979, especialmente em seu art. 1º, §1º, dispositivo que trata dos ‘crimes conexos’ e que em interpretação predominante até aqui anistia agentes da ditadura que praticaram crimes de lesa humanidade, tanto sobre a Constituição de 1988 como sobre a Convenção Americana e a jurisprudência da Corte Interamericana de Direitos Humanos no Caso Gomes Lund [...]. (Tosi *et al.*, 2015, p. 143).

O estudo desses casos ajuda a compreender nossa questão de se saber qual a eficácia, o alcance das normas, dos regulamentos internacionais sobre os países. Evidentemente que é um exemplo que não convém generalizar conclusões, uma vez que cada país tem leis internas próprias e a condução das relações e obrigações internacionais não é uniforme. De toda forma, o que se vê globalmente é uma longa tradição de desconsideração e descumprimento dos instrumentos internacionais que versam sobre Direitos Humanos. Bem verdade que piora muito quando se olha a questão do acompanhamento de sua implementação; basta ver a ressalva feita pelo Brasil ao depositar a Carta de Adesão à Convenção Americana de Direitos Humanos (Pacto de São José da Costa Rica), em 25 de setembro de 1992. Naquele momento e Brasil apresentou formalmente ressalva aos seus artigos 43 e 48, alínea ‘d’”, para asseverar que “não incluem o direito automático de visitas e inspeções *in loco* da Comissão Interamericana de Direitos Humanos, as quais dependerão da anuência expressa do Estado”<sup>70</sup>. Estas visitas e inspeções são fundamentais para o acompanhamento das demandas que são apresentadas junto à Comissão ou à Corte.

---

<sup>70</sup> Este texto integra a carta de adesão do Brasil ao Pacto de São José da Costa Rica, constante no site do Ministério das Relações Exteriores. Presidência da República, Casa Civil, Subchefia para Assuntos Jurídicos. Pacto de São José da Costa Rica. Disponível em

Este quadro nos auxilia a refletir sobre a regulação internacional que vem sendo proposta para a edição gênica, com destaque especial para CRISPR-Cas, não para concluir que não se deve ou não adianta fazê-lo, muito ao contrário, para asseverar que embora regular o uso de CRISPR-Cas pareça ser um desafio necessário, talvez não seja suficiente. Voltaremos à questão mais adiante.

## 2.4 FUNDAMENTOS DE UMA ÉTICA PARA A EDIÇÃO DE GENES

[...] mas no caso da ética, ela tem de existir. Ela tem de existir porque os homens agem, e a ética existe para ordenar suas ações e regular seu poder de agir. Sua existência é tanto mais necessária, portanto, quanto maiores forem os poderes do agir que ela tem de regular. Assim como deve estar adaptado à sua magnitude, o princípio ordenador também deve adaptar-se ao tipo de ação que se deve regular. Por isso, capacidades de ação de um novo tipo exigem novas regras da ética, e talvez mesmo uma ética de um novo tipo. (Jonas, 2006, p. 66).

Fizemos até aqui uma longa jornada de buscas para entender CRISPR. Essa jornada nos apresentou um desafio adicional. Precisávamos antes entender quais são as bases sob as quais a edição de genes se assenta e para tanto fomos buscar na genética e na evolução os fundamentos que nos faltavam. De posse de um conjunto mais amplo de conhecimentos, pudemos compreender o que é o sistema CRISPR-Cas, porquanto mecanismo imunológico de bactérias e archaea, e o que é a ferramenta molecular CRISPR-Cas - que recebe o mesmo nome de seu homólogo selvagem, do qual foi adaptada em laboratório e vem sendo utilizada tanto como marcador molecular como ferramenta para edição de genes, tanto na pesquisa básica como aplicada - para encontrar e entender quais são as ameaças e oportunidades que decorrem da técnica e a partir deste quadro, num segundo momento, vislumbrar se há e quais são as implicações éticas, qual a natureza destas implicações e as suas possíveis consequências.

Nos situamos agora entre estes dois momentos, o da busca pelo conhecimento e o da reflexão ética, em que precisamos encontrar uma base, um fundamento teórico no vasto campo da bioética que possa nos orientar para a etapa seguinte. Para cumprir esta tarefa abordaremos quatro questões: 1º vamos discutir quais os requisitos de uma bioética para atender a nossa necessidade; de posse desses

requisitos, 2º qual bioética se conforma aos mesmos; encontrada essa bioética, 3º como ela lida com os vários problemas, dilemas e conflitos que emergem da técnica CRISPR apontados e, por fim 4º qual a responsabilidade de nossa humanidade para com o nosso tempo e para com as gerações futuras.

#### 2.4.1 Em busca de uma ética

Trata-se de saber se, sem restabelecer a categoria do sagrado, destruída de cabo a rabo pelo *Aufklärung* [iluminismo] científico, é possível ter uma ética que possa controlar os poderes extremos que hoje possuímos e que nos vemos obrigados a seguir conquistando e exercendo. (Jonas, 2006, p. 65).

A ética que buscamos deve ser capaz de mediar e orientar a nossa sociedade diante do poder da técnica, um poder capaz de mudar o mundo como o conhecemos e a nossa própria humanidade, cujo potencial de produzir as maiores maravilhas para a espécie humana é tão grande quanto o de produzir os piores males e até mesmo a extinção de espécies inteiras. CRISPR se insere nesse poder, é parte dele, um poder ainda bruto, sem controle, o que lhe falta em crítica sobra em ousadia.

A ética de que necessitamos frente a este poder da biotecnologia, um poder global, não pode ser uma ética tradicional<sup>71</sup>, presa a um tempo e a um lugar, deve ser capaz de superar as diferenças culturais, regionais, regulatórias, religiosas, políticas e econômicas. Também não pode ser uma ética voltada apenas às questões individuais ou de grupos étnicos, ela tem que dar conta tanto da coletividade quanto de sujeitos desconhecidos ou indefinidos; tem que ser uma ética da sociedade global, que aproxime as nações em torno de um propósito comum: a sobrevivência das gerações futuras, na qual se incluem todas as vidas, humanas e não humanas. Mas não basta apenas considerá-las como objetos de um nosso interesse maior, tem que

---

<sup>71</sup> Partindo da análise das modificações na natureza do agir humano, objeto por excelência da ética, Jonas considera que as éticas tradicionais erigidas até então não são mais capazes de orientá-lo: “[...] creio que certas transformações em nossas capacidades [as técnicas modernas] acarretaram uma mudança na natureza do agir humano [coletivo-cumulativo-tecnológico]. E, já que a ética tem a ver com o agir, a consequência lógica disso é que a natureza modificada do agir humano também impõe uma modificação na ética. E isso não somente no sentido de que os novos objetos do agir ampliaram materialmente o domínio dos casos aos quais se devem aplicar as regras de conduta em vigor, mas em um sentido muito mais radical, pois a natureza qualitativamente nova de muitas das nossas ações descortinou uma dimensão inteiramente nova de significado ético, não prevista nas perspectivas e nos cânones da ética tradicional”. (Jonas, 2006, p. 29, 66).

ser capaz de ultrapassar o antropocentrismo<sup>72</sup> para considerar os outros seres vivos e o meio ambiente sujeitos em sim mesmos.

Neste sentido, tem que ser uma ética que conecta todas as coisas e todos os seres vivos em direção a uma ética da vida e pela vida global, ecossistêmica, planetária. Deve ser uma ética capaz de orientar o processo de aquisição do conhecimento para lhe dar sentido, propósito e significado mais amplo, uma ética capaz de conectar todo este conhecimento disponível sob a égide da responsabilidade partilhada pela sobrevivência do planeta. Esta ética deve ser capaz de garantir o compartilhamento pleno e justo de todos os benefícios da técnica entre todos os seres vivos e ao mesmo tempo impedir a sua apropriação econômica ou política. Também deve ser capaz de garantir que os riscos e danos não sejam impostos a apenas uma parcela da vida global, seja ela humana ou não humana. Deve ser capaz de fundamentar o desenvolvimento na colaboração, em contraposição à competitividade, à luta sangrenta pela sobrevivência. Esta ética deve ser capaz de conduzir o personalismo a um altruísmo baseado na responsabilidade coletiva, ambiental e na compaixão. Esta ética deve ser capaz de superar a liberdade sem compromisso, o conhecimento efêmero e aventureiro, em favor da busca pela sabedoria para a sobrevivência. Esta ética tem que ser capaz de renunciar aos benefícios do tempo presente para garantir o futuro às próximas gerações, para que os nossos benefícios não sejam os sacrifícios do amanhã. (Jonas, 2006; Potter, 2016).

Precisamos, pois, de uma ética que possa suportar os desafios de CRISPR-Cas em todas as suas dimensões. Partindo do que vimos nos capítulos anteriores, poderíamos dizer que essa ética precisa ser capaz de lidar com pelo menos nove dimensões (vide Figura 6): a) tempo; b) espaço; c) progressividade; d) dualidade; e) imprevisibilidade; f) diversidade; g) social; h) política e i) econômica. Cada uma dessas dimensões se conecta aos vários fatores que vimos nos capítulos anteriores na forma de riscos e benefícios, de maneira direta, indireta e também transversal. Por exemplo: a dimensão tempo se conecta com evolução, hereditariedade, efeitos transgeracionais, epigenética, etc. A dimensão espaço se conecta aos impactos da propagação de efeitos dentro de uma região ou população, epidemiologia, meio

---

<sup>72</sup> “[...] a ética que possa ser eventualmente fundamentada a partir daqui não deveria estacionar no brutal antropocentrismo que caracteriza a ética tradicional [...]: as possibilidades apocalípticas contidas na tecnologia moderna têm nos ensinado que o exclusivismo antropocêntrico poderia ser um preconceito e que, em todo o caso, precisa ser reexaminado. (Jonas, 2006, p. 97).

ambiente, bioproteção, etc. A dimensão progressividade diz respeito a dinâmica de como um efeito sobre um indivíduo se propaga por uma população e sobre o meio ambiente, a epidemiologia, a biossegurança, etc. A dimensão dualidade se conecta aos efeitos ambíguos, aos usos que possam ser feitos com a técnica, a eugenia, etc. A imprevisibilidade se conecta ao processo de aquisição do conhecimento, aos efeitos *off-target*, ao mosaicismo, aos usos indevidos ou imprevistos da técnica, à biossegurança, etc. A dimensão diversidade se conecta a evolução, às mutações, à variabilidade, etc. A dimensão social se conecta à equidade, à justiça social, ao acesso e ao compartilhamento dos bens e produtos que possam advir da técnica, mas também ao compartilhamento equânime dos riscos e danos, etc. A dimensão política se conecta à regulamentação, à responsabilidade dos estados e governos pela gestão do processo de aquisição do conhecimento, pela biossegurança e bioproteção, pela equidade e justiça social, pelo compartilhamento equânime dos benefícios e riscos decorrentes da técnica, etc. A dimensão econômica se conecta com as disputas de patentes, a eugenia, as desigualdades sociais, a pobreza, a exclusão social, etc. Enfim, essas são apenas algumas perspectivas sobre as quais as nove dimensões apontadas devem ser consideradas sob o ponto de vista da ética que procuramos. Disto decorre que, em certa medida, a questão que se coloca para a nossa busca, mais que discutir qual ética é melhor para orientar este ou aquele problema, é saber se ela é suficiente, o que quer dizer que ela deve considerar e dar conta de toda a complexidade da natureza das coisas, dos problemas, dilemas e conflitos que decorrem de CRISPR, a despeito das limitações do conhecimento, uma vez que um problema não deixa de existir apenas porque não o enxergamos.

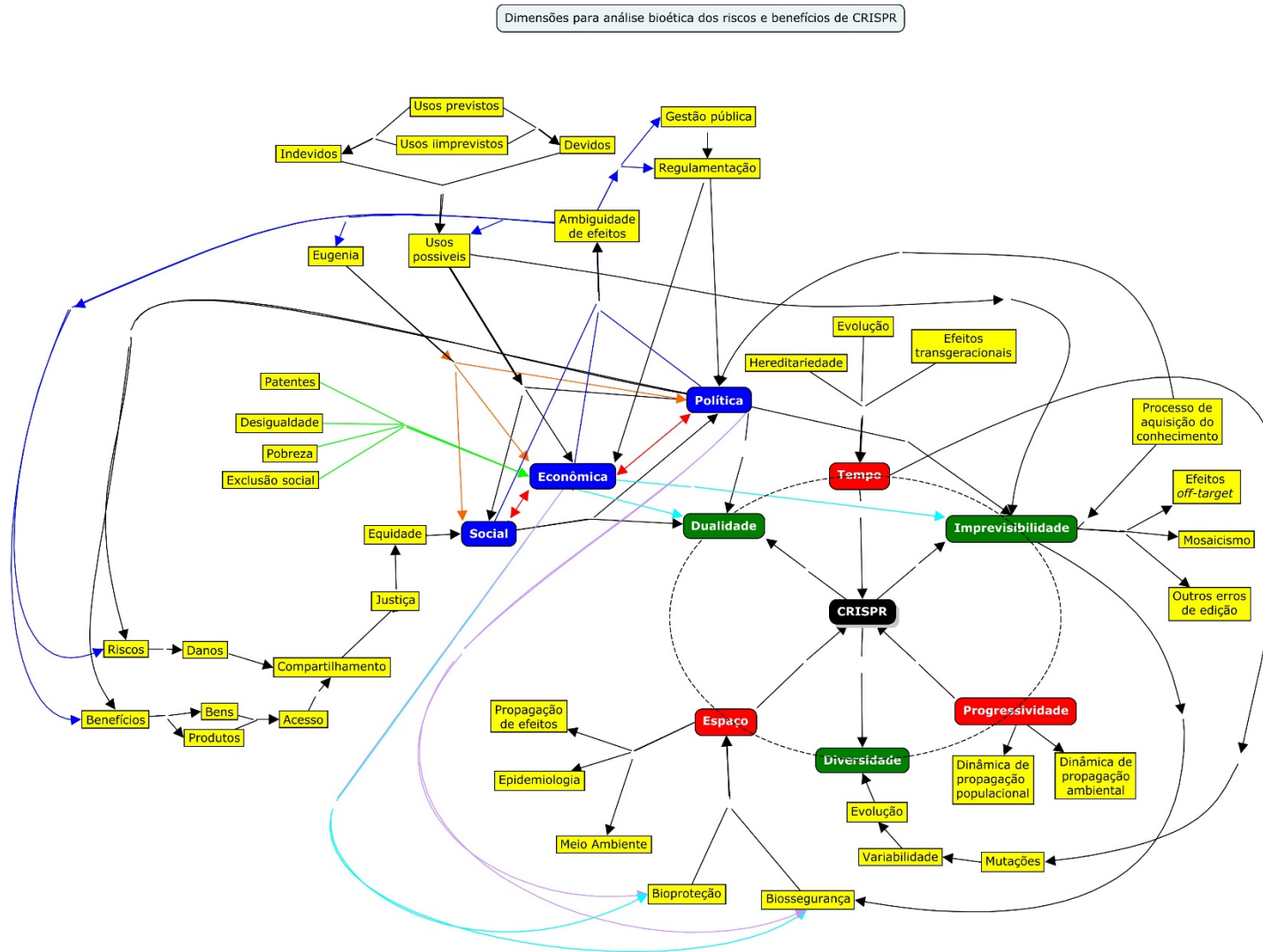


Figura 6 - Dimensões para análise bioética dos riscos e benefícios de CRISPR.

Nota: o mapa conceitual acima é apenas uma representação parcial das relações entre as dimensões que podem ser estabelecidas para a análise bioética dos riscos e benefícios de CRISPR.

O fator tempo sugere que as éticas tradicionais podem não dar conta dos problemas que estamos a tratar – problemas que se originam nas ações do presente e que se refletem nas gerações futuras –, seja porque estão suscetíveis às mudanças e influências históricas decorrentes do processo civilizatório particular de cada cultura, seja porque são territoriais (no sentido de espaço antropológico), tem raízes e abrangência comunitários, do que decorre que não alcançam toda a sociedade e não são reconhecidos por ela como valores universais. Dito de outra forma, a ética que parece servir ao nosso propósito precisa ser válida e reconhecida por toda a humanidade, quiçá para além dela, no tempo presente e também no tempo futuro. Deve, pois, atender aos requisitos de universalidade e, para usar um termo da genética, ser transgeracional.

Necessário neste ponto fazer um parêntese acerca dos termos humanidade e universalidade expressos acima. Idealmente, esta ética que necessitamos deve superar a limitação antropocentrismo histórica do pensamento ocidental, não por mera vontade, mas porque o nosso agir exige que respondamos por ele. Não temos aqui a pretensão de sermos capazes de superar esta questão que é central na filosofia e sobretudo na bioética, desejamos apenas registrá-la para podermos refletir sobre o impacto profundo que a mesma tem na ética que buscamos e de que maneira a escolha que precisamos fazer será capaz de lidar com essa questão: uma ética que seja válida e considere os interesses e necessidades não apenas da humanidade, mas de todos os seres vivos e de todo o universo afetado pela ação humana, mas não no sentido instrumental que muitas vezes se atribui ao termo consideração, mas sim pelo valor intrínseco dos interesses e necessidades da natureza, que independem do ímpeto humano histórico de servir-se dela para dominá-la, sem a devida consideração de consequências sobre as vidas não humanas que a ação humana afeta.

O fator espaço tem a ver não apenas com as questões geográficas, sob a perspectiva antropológica, inclusive da relação do homem com a natureza que acabamos de mencionar, mas também sob a perspectiva da natureza consigo mesma, do universo que segue seu curso apesar, a despeito e à revelia da existência humana. Neste sentido, o espaço a que nos referimos tem dois significados: 1º não é o da natureza à serviço e submetida ao interesse humano ou subjugada à tecnologia, mas aquele que se revela num processo evolutivo de milhões de anos e no qual o planeta em que vivemos, um pequeno corpo celeste como tantos outros milhões que coabitam o universo, é o berço de toda a vida que conhecemos e na qual somos apenas uma

dentre tantas, de modo que não temos nenhum direito a mais que possamos renunciar ou a menos possamos reivindicar; 2º o espaço a que nos referimos é também aquele no qual toda vida e todos os ecossistemas estão incluídos, de alguma forma interligados e interdependentes, no qual toda vida depende de outra vida, toda espécie depende de outra espécie, tudo está conectado pela frágil e complexa teia evolutiva na qual o homem é apenas uma variante biológica, como todas as demais. Aliás, os ensinamentos da paleontologia, alguns deles vimos capítulos atrás e no Apêndice A, são valorosos e dizem muito a este respeito.

O fator ação humana diz respeito ao fazer, ao estilo de vida e à maneira de se relacionar de nossa espécie consigo mesma e com a natureza, de ocupação do planeta e dos impactos que isto acarreta ao longo do tempo, tanto sobre a evolução das espécies como em suas chances de sobrevivência, inclusive sobre a própria espécie humana. Neste sentido, a ação humana, pelo domínio das novas tecnologias, deve considerar a tríade *escala* (que pode ter sentido geográfico, ambiental, zoonótico ou epidemiológico, que pode atingir ecossistemas e toda a biosfera do planeta), *efeito cumulativo* e *irreversibilidade*, sob a perspectiva do *tempo*, para perceber o quanto a ação humana pode vulnerabilizar a biosfera. Isso permitirá projetar o futuro e, como dizíamos, olhar o presente sob a égide das consequências simuladas neste futuro:

Nenhuma outra ética vira-se obrigada a considerar a condição global da vida humana e o futuro distante, inclusive a existência da espécie. O fato de que hoje eles estejam em jogo exige, numa palavra, uma nova concepção de direitos e deveres, para a qual nenhuma ética e metafísica antiga pode sequer oferecer os princípios, quanto mais uma doutrina acabada. (Jonas, 2006, p. 41).

Do que vimos até aqui, podemos assumir que é imperativo que a ética que buscamos leve em conta todos os elementos de que tratamos e reconheçamos, poucas são as que conseguem enquadrar biotecnologias como CRISPR numa moldura tão complexa.

#### **2.4.2O progresso e a edição de genes: do conhecimento perigoso ao temor**

Se concordamos que nosso meio ambiente está mudando e mudando rapidamente, devemos concordar que não possuímos agora toda a informação de que necessitamos para construir uma sociedade futura. Devemos perguntar o que podemos fazer para ganhar uma ideia melhor de como prognosticar a natureza dos futuros problemas com os quais teremos de lidar. (Potter, 2016, p. 23).



Para iniciar este ponto, convém fazermos algumas considerações que ajudam a situar toda a discussão que iniciamos e prosseguiremos daqui por diante. Doravante, estaremos nos referindo frequentemente ao pensamento Potteriano e Jonasiano, por várias razões, dentre as quais porque ambos nos oferecem uma análise crítica bastante estruturada da tecnologia contemporânea a partir de uma proposta que vem ao encontro dos elementos que buscamos para a nossa ética e que se compatibiliza com a caminhada que percorremos até aqui. Tanto Potter quanto Jonas vão tratar a questão do conhecimento a partir da visão que cada um tem da dinâmica histórica do desenvolvimento científico e do conceito de progresso, para então discutir os problemas e suas implicações éticas para a nossa contemporaneidade tecnológica e para os desafios que devemos superar diante do futuro. Não obstante, podemos dizer que ambos partem de um mesmo lugar comum, a fragilidade da vida, e miram um mesmo propósito, a sobrevivência, no entanto, cada um segue caminhos epistemológicos distintos e perspectivas bastante particulares.

Potter é bioquímico, passa grande parte da vida envolvido com a biologia molecular, vê a fragilidade a partir da experiência na microbiologia, do estudo do câncer e dali conecta todas as vidas e todo o mundo. Jonas é filósofo, vê a fragilidade a partir da experiência do horror absoluto do holocausto da 2ª Grande Guerra Mundial e dali conecta todas as vidas. Potter e Jonas se encontram no futuro sob a égide da responsabilidade humana pela sobrevivência do planeta e de todas as vidas que nele habitam.

Potter é fruto da biotecnologia e é a partir deste lugar no mundo que ele constrói uma ponte em direção a uma ética da vida, que ele vai chamar de bioética. Jonas é fruto da racionalidade pragmática da filosofia europeia, em especial alemã, e é a partir destas referências no campo da ética que ele vai percorrer um longo caminho em direção a bioética, termo que ao que parece, ele nunca chegou de fato a empregar. Potter propõe uma ponte para religar as ciências e as humanidades e tem a ousadia de transpô-la. Jonas também a percorre e embora, ao que parece, não quis o destino que eles se cruzassem, apesar disso conspirou para que suas obras se tocassem de uma maneira absolutamente autêntica. Embora os caminhos trilhados sejam diferentes, eles não se contrapõem, surpreendentemente se complementam e em vários momentos trilham lado a lado uma jornada de construção de uma ética da responsabilidade de nossa humanidade presente para e em favor de todas as vidas do futuro, uma “bioética global” e que mais tarde Potter vai adjetivar de “profunda”.

Interessante notar também – e fazemos esta afirmação ciente de que ela estará desde logo sujeita a críticas –, que vários termos usados por Potter se equivalem a termos empregados por Jonas ou são complementares; por exemplo, o termo “técnica” em Jonas parece ter sentido, em certa medida, equivalente ao termo “conhecimento” em Potter; já o termo composto “conhecimento perigoso” em Potter e “heurística do medo” em Jonas parecem ser complementares. De forma semelhante o conceito de “sabedoria” em Potter parece se completar em sentido ao termo “responsabilidade” em Jonas. Embora admitamos, fosse imensamente interessante e enriquecedor um estudo comparativo entre os dois pensadores, o limiar de nossa tarefa se encontra em algum ponto muito menos ambicioso, de tal forma que nos restringiremos a tratar de apenas alguns temas indispensáveis à nossa discussão e que estão presentes no pensamento de ambos os autores, mas desde logo sabendo que essa limitação, uma fragmentação seletiva e por certo imprópria do conhecimento, ainda que a contragosto, é em si algo que os próprios Jonas e Potter iriam criticar, e diga-se, não sem razão. Feita esta pequena ressalva, podemos seguir adiante.

A ideia corrente de progresso é a de que ele é fruto do esforço humano para o alcance de um bem comum. Para Potter (2016), sob este senso coletivo coabitam três conceitos distintos de progresso que convivem em conflito: o religioso, o científico-materialista e o científico-filosófico. Para a religião o único e verdadeiro progresso não está neste mundo, ele reside no conhecimento acerca da vontade de Deus. O conceito científico-materialista se baseia na ideia de um desejo universal, um impulso natural em direção ao progresso, que só é alcançável pelo acúmulo de conhecimento, quanto mais conhecimento, melhor. Este conceito se estrutura sobre a teoria Darwinista da evolução. Potter, recorrendo-se de Spenser, alude que o progresso seria um impulso natural em direção à perfeição, como um mecanismo que pode ser conduzido, direcionado pela educação (lembremos da discussão que deixamos para traz sobre teorias da evolução e sobre o paralelo da biologia do organismo como uma máquina). Há algo como um fim tangível, alcançável nessa ideia de progresso. Neste sentido, progresso e evolução se equivalem ao ponto em que progresso é como se fosse a expressão antropológica de evolução. Jonas trata desta questão de maneira muito próxima:

Somos tentados a crer que a vocação dos homens se encontra no contínuo progresso desse empreendimento [um infinito impulso da espécie para adiante], superando sempre a si mesmo, rumo a feitos cada vez maiores. A

conquista de um domínio total sobre as coisas e sobre o próprio homem surgiria como a realização do seu destino. (Jonas, 2006, p. 43).

Retornando a Potter, a distinção que cabe fazer é que, na natureza, prevalece um certo pragmatismo de curto prazo, uma limitação, vez que a sobrevivência do mais apto só é garantida para aquele capaz de se adaptar ao meio ambiente (que sofre mudanças permanentemente) no momento fatal em que a seleção natural atua. O sobrevivente não tem o poder de prever os desafios futuros do ambiente, neste sentido, vive apenas os desafios do momento presente. No caso do progresso humano, dada sua capacidade diferenciada de planejar, de prever, ele é capaz de um pragmatismo de longo prazo que lhe permite antever as mudanças do meio ambiente, os desafios do futuro, e assim se antecipar e evitar sucumbir à seleção natural.

O conceito científico-filosófico tem o materialista como base, mas abandona a ideia do progresso como um mecanismo natural inevitável da evolução para estabelecê-lo como um processo de busca contínua que não tem limites, de conquista que pode ou não ser alcançada, e nunca por um único indivíduo. Em certa medida, este conceito parece se aproximar da crítica que Kesselring (2000) oferece ao *ethos* dominador da natureza, que também se aproxima à crítica de Hans Jonas. Nessa perspectiva, o conhecimento não se confunde com sabedoria, no que Potter, citando Schweitzer, vai dizer: “nossa época descobriu como divorciar o conhecimento do pensamento, com o resultado que temos, de fato, uma ciência que é livre, mas dificilmente uma ciência que reflete”<sup>73</sup>. (Potter, 2016, p. 70). A descrição que Potter dá ao conceito é em boa medida, a definição e a crítica que o autor faz à ciência contemporânea:

O conceito científico-filosófico de progresso é descendente em linha direta das tradições americanas. Ele representa a herança judeu-cristã, a herança puritana e a herança utilitarista. Ele pode ser chamado de conceito realista de progresso, porque não estima nenhuma ilusão. Todas as suas premissas estão sujeitas a teste e modificação. Enfatiza igualmente o indivíduo e a sociedade, estima o florescimento dos indivíduos como o teste supremo do progresso em uma sociedade. (Potter, 2016, p. 71).

A base desse conceito se funda em algumas ideias que nos soam muito familiares:

---

<sup>73</sup> “Our age has discovered how to divorce knowledge from thought, with the result that we have, indeed, a science which is free, but hardly any science left which reflects”. (Schweitzer, 1947, p. 18).

- Nenhum conhecimento é absoluto;
- O conhecimento tem apenas a ignorância como limite ([Potter citando] Virchow, 1858);
- Os limites do conhecimento são infinitos; cessação de novos conhecimentos não é concebível;
- Nenhum indivíduo pode dominar todo o conhecimento existente;
- O conhecimento deveria ser disseminado tão amplamente quanto possível;
- A sabedoria é o conhecimento moral, o conhecimento de como usar o conhecimento e o conhecimento mais importante de todos. (Potter, 2016, p. 70).

Admitindo que o conceito científico-materialista de progresso é uma etapa intermediária necessária entre o conceito religioso e o científico-filosófico, Potter assinala que “a ciência é conhecimento, mas não é sabedoria”. (Potter, 2016, p. 28). Vamos tratar mais adiante do conceito de sabedoria, por isso iremos aqui apenas assinalar a sua discordância, vez que ela é fundamental para a compreensão da crítica Potteriana ao conhecimento, na forma como ele se realiza na sociedade contemporânea e que ele vai chamar de conhecimento perigo: “o conhecimento que se acumulou mais rápido do que a sabedoria para o administrar”. (Potter, 2016, p. 95).

O desenvolvimento vertiginoso da ciência moderna, em um nível de complexidade exponencial, em quantidades que dobram em intervalos de tempo cada vez menores, levaram a especialização como forma de fazer ciência (otimizando recursos e potencializando resultados). No entanto, o efeito colateral desta estratégia, é que à medida em que o cientista vai se aprofundando no conhecimento específico, mais vai perdendo a capacidade de vislumbrar como esse conhecimento altamente especializado se encaixa “no contexto mais amplo da ciência e da sociedade” (Potter, 2016, p. 78), capacidade esta que acaba por se esvaír no contexto do progresso:

Ele [o cientista] não era mais capaz de dedicar o seu tempo às questões cósmicas ou a se preocupar com a verdade última. Estava convencido de que esta última não era possível e que as primeiras não eram nem importantes, nem úteis, nem tampouco interessantes. (Potter, 2016, p. 78).

Para este cientista, conhecer apenas uma pequena parte de um todo não se constitui em um problema, uma vez que prevalece a ideia de que todo o conhecimento, ainda que apenas uma pequena parcela de um contexto mais amplo que não possa ser percebido de imediato, conduz irremediavelmente a um bem maior, dado que todo o conhecimento é bom e portanto conduz ao bem. (Potter, 2016). Notadamente, Jonas

(2006) parece partilhar da mesma percepção do problema da fragmentação do conhecimento<sup>74</sup>. A ressalva que merece ser feita é que em Jonas ciência e técnica são instâncias distintas e nesta última reside toda a ameaça ao futuro da humanidade e do planeta. Já em Potter esta distinção não é tão demarcada. No entanto, ambos convergem para um entendimento comum de que a ciência precisa e deve progredir pelo bem da humanidade<sup>75</sup>.

A chegada do século XX consolida a separação entre a ciência e as letras e estabelece uma relação que vai se fortalecer cada vez mais entre conhecimento e poder, há um ponto em que não será mais possível distinguir um do outro. Apenas fazendo um pequeno parêntese, mesmo porque apontamos alguns elementos capítulos atrás, fenômeno semelhante ocorre entre política e economia e ao que parece, entre estes últimos com aquele primeiro, de uma forma tal que a ciência parece se enveredar temerariamente entre o poder, a economia e a política. Curiosamente mais tarde as letras vão fazer um grande esforço para receberem a denominação de “ciências humanas”, numa tentativa de resgatar um prestígio histórico perdido. Com efeito, não foram as letras, ou as humanidades se assim preferirmos, que perderam status ou prestígio frente as ciências, ocorre que desde a antiguidade e por toda a idade média, o filósofo e o cientista eram em geral a mesma pessoa, uma identidade única de conhecimento. É no decorrer da idade moderna, com o renascimento das ciências pelo iluminismo, que em três ou quatro séculos ela avança muito além do que havia ocorrido todos os outros séculos anteriores, que aquele que fazia ciência não era mais o mesmo que fazia filosofia. Talvez resida nesse divórcio a raiz da especialização que Potter critica. Esta especialização vai se transformar em alta especialização, há um ponto tal capaz de produzir coisas que somadas, combinadas, organizadas em determinados arranjos, puderam produzir todo o progresso de que somos testemunho, dos materiais como os polímeros sintéticos, os nanomateriais que citamos anteriormente, os computadores, a revolução nas comunicações, a inteligência artificial, a biotecnologia, CRISPR e tanto mais que

---

<sup>74</sup> “O nome desse preço [o preço do progresso científico] é “especialização”, que por causa do enorme aumento do material de conhecimento, por suas subdivisões e seus métodos especiais, cada vez mais sutis, conduz a uma fragmentação extrema do conhecimento total. O preço que o indivíduo paga para poder contribuir criativamente no processo, e mesmo para entender adequadamente o assunto como um observador, é a renúncia a partilhar de tudo o mais que se encontra fora de sua estreita competência”. (Jonas, 2006, p. 270).

<sup>75</sup> “Aqui se trata de um caso inquestionável, talvez o único caso inquestionável – de progresso real e de seu caráter desejável, que requer o nosso apoio”. (Jonas, 2006, p. 270).

não poderíamos enumerar. E isso parece corroborar aquela ideia de que todo o conhecimento é bom, mesmo que ele seja apenas uma pequena parcela que no momento de sua descoberta não seja possível compreender de que maneira ele se encaixa num bem maior. Mas esse mesmo conhecimento irá produzir os venenos químicos, as armas biológicas e as bombas que alimentaram a 1ª e a 2ª grandes guerras mundiais e que em poucas décadas produziram mais degradação ambiental e destruição do que qualquer outra espécie foi capaz de impor à natureza ao longo de todos os outros bilhões de anos de evolução<sup>76</sup>. Essa crítica estará presente tanto em Potter (2016), como em Jonas (2006) em vários momentos. Aliás, Jonas vai chamar de crença este tipo de postura, uma espécie de crença “autoimune”, que acredita ser capaz de remediar-se a si mesma dos danos que tem provocado, sobretudo nestes últimos cem anos:

A este tipo de crença pertence a confiança de que “a técnica” será capaz de dominar os problemas que ela criou e que basta aperfeiçoá-la para descobrir o remédio contra os males que ela provoca: Somente a espada que causou a ferida pode curá-la”. (Jonas, 2006, p. 206).

Esse é o paradoxo do conhecimento que Potter e Jonas denunciam: uma ciência que parece ser capaz de produzir ordem social e bem-estar material, uma ciência legisladora que parece seguir em direção a um sumo bem, mas que ao mesmo tempo caminha em direção a um poder absoluto, a “aventura prometeica”, que se traduz também na capacidade de destruir seu próprio criador:

Observe-se que este não é um julgamento de valor, mas uma constatação objetiva: podemos deplorar a invenção da bomba atômica dotada de poder destrutivo ainda maior e considerá-la como um valor negativo. Porém, o que lamentamos é exatamente o fato de que ela seja tecnicamente “melhor”; nesse sentido, sua invenção é um progresso, lamentavelmente. (Jonas, 2006, p. 271).

Oportuno lembrar as palavras de Gabriel García Márquez (Márquez, 1986), no Encontro Internacional sobre Paz e Desarmamento, no dia 6 de agosto de 1986, “aniversário” da bomba de Hiroshima, resgatado por Kesselring (2000, p. 169–170):

---

<sup>76</sup> “Temos hoje, no mundo, mais do que 50.000 cargas explosivas atômicas postas à disposição. Em termos mais simples, isso significa que cada ser humano, as crianças aí incluídas, está sentado num barril com 4 toneladas de dinamite, cuja explosão integral chegaria a extinguir doze vezes todos os rastros de vida na terra. O potencial destrutivo dessa ameaça imensa [...] nos permitiria prejudicar mais quatro planetas que giram ao redor do Sol e atingir e influir o equilíbrio do sistema solar”, (Kesselring, 2000 apud Márquez, 1986).

Desde que a vida surgiu visivelmente na Terra, passaram-se 380 milhões de anos até que uma borboleta aprendesse a voar; passaram-se outros 180 milhões de anos para gerar uma rosa que não tinha nenhuma outra obrigação senão ser linda; e passaram-se mais quatro épocas geológicas até que os homens tornassem-se aptos a cantar melhor do que os pássaros e morrer por amor. Não faz honra ao talento humano ter inventado, na idade áurea da Ciência, um caminho pelo qual um desenvolvimento tão enorme e tão dispendioso, que gastou alguns milênios, possa reverter ao nada do qual saiu – e isso graças à arte primitiva de apertar um botão.

Bem verdade, admitamos, em termos de resultado, talvez não faça muita diferença se o botão a que García Márquez se refere seja de um artefato nuclear ou uma edição gênica fora do alvo, um *gene drive* ou um experimento CRISPR que inadvertidamente escapou do laboratório. No entanto, Potter e Jonas vão apontar uma outra faceta mais sutil e menos evidente desta ambivalência, vez que ela se esconde por traz de um aparente benefício para a humanidade: certos avanços, como por exemplo na medicina, que tem possibilitado a extensão da expectativa de vida de milhões de pessoas que se somam às que nascem, não vêm acompanhados de soluções que permitam ao planeta suportar nosso estilo de vida contemporânea, nem do ponto de vista de garantir igualdade de acesso aos bens e produtos desta mesma ciência (basta lembrar do capítulo onde tratamos de regulação internacional e acompanhamento das pesquisas de edição gênica), nem do ponto de vista de garantir acesso a bens básicos para a existência (como água, território, comida, educação e saúde), nem do ponto de vista da incontável degradação ambiental a que chegamos e que se aponta estar em num nível de quase irreversibilidade, se é que já não o ultrapassamos, e que pode levar o planeta ao esgotamento completo de sua capacidade de manter a vida, inclusive a nossa. Nessa perspectiva, não seria sem sentido dizer que o pior mal é aquele que se confunde com um bem, vez que transmutado, não apenas não o combatemos, como o desejamos. Potter tinha uma especial preocupação com a possibilidade de o mundo viver uma explosão demográfica de proporção catastrófica, em que este não seria capaz de alimentar tanta gente – esta aliás, era uma preocupação amplamente difundida na década de 1960 –, explosão esta que decorre deste modelo de desenvolvimento que ele critica e que Jonas vai chamar de “programa baconiano”, em que a “pilhagem cada vez mais brutal do planeta” ultrapassou todos os limites possíveis em direção a uma “Terra devastada”. (Jonas, 2006, p. 235, 236).

De fato, apesar de a população mundial continuar crescendo, a catástrofe anunciada, ao menos por hora, ainda não ocorreu e as taxas de crescimento

populacional em geral têm sido menores do que havia sido estimado. Insolitamente, isto não quer dizer que o mundo não esteja passando por e morrendo de fome, quer dizer apenas que a imensa fome que vemos no mundo atual não decorre prevalentemente do excesso de vidas humanas existente e que os outros fatores que tanto Potter como Jonas apresentam, assumiram maior relevância nesta nova configuração do mundo globalizado. (Jonas, 2006; Potter, 2016). O que torna este drama pior é que se estima que a quantidade de alimentos produzidos no mundo, se fosse distribuído em razão da necessidade e não da riqueza, seria suficiente para acabar com a fome no mundo.

Enquanto Potter vai buscar na biologia molecular, nos fenômenos intra e extracelulares um fundamento para a construção da sua bioética global, Jonas percorre outro caminho em busca de uma ética para o tempo presente; ele retorna ao processo civilizatório humano para encontrar as origens da formação da sociedade, com o propósito de entender qual a influência da técnica<sup>77</sup> nesse processo, como as relações eram mediadas e que elementos participavam dessa equação. Desde aqueles primórdios, a relação do homem com o mundo não humano, com a natureza, é considerada neutra, não suscetível a atribuição de valor ou julgamento moral. O campo da ética se formava desde então como o espaço restrito da mediação das relações entre seres humanos, no restrito horizonte temporal do momento presente, no restrito espaço geograficamente circunscrito. Esse antropocentrismo também estabelecia que a *techne* não tinha o poder de alterar a essência humana, não apenas porque ela estava fora do mundo, inalcançável e protegida das mãos da *techne*, como também porque esta não detinha de fato esse poder. Da mesma forma, o intervir na natureza não estava submetido à moral, mesmo porque a natureza se revelava dotada de um poder e uma capacidade de se recuperar de qualquer agir humano muito além da capacidade deste de lhe impingir danos. Durante muito tempo o agir humano, a técnica não era um problema, dada a sua limitação e alcance: “o braço curto do poder humano não exigiu qualquer esforço comprido do saber, passível de predição, a pequenez de um foi tão pouco culpada quanto do outro”. (Jonas, 2006, p. 37).

---

<sup>77</sup> O termo “técnica” é empregado por Jonas, ao analisar as éticas tradicionais, no sentido de habilidade (*techne*). Mais tarde o termo vai incorporar o sentido contemporâneo de tecnologia. (Jonas, 2006, p. 35).



Esse modelo de ética limitado no tempo, no espaço e nas relações entre seres humanos persistiu desde a antiguidade até que a capacidade humana de intervir na natureza, a *techne* moderna, ultrapassa esses limites de uma tal forma, numa tal escala de grandeza que até então era impensável, nem em termos de objetivos, nem de consequências. Ao ultrapassar esses limites a ética antiga já não é mais capaz de mediar esse novo agir humano e suas consequências. A partir da técnica moderna, tempo e espaço assumem uma nova dimensão, numa equação em que o futuro, o planeta, os outros seres vivos e o meio ambiente passam a ser subjugados por um poder jamais sonhado: “Um poder da técnica que se tornou tirânico e que em vez de libertar o homem, o escraviza”. É preciso enfrentar esse poder, o que significa enfrentar “o centro dessa dinâmica mortal”, “a economia “livre” das sociedades industriais ocidentais”. (Jonas, 2006, p. 37). Um poder que se revela na magnitude de suas capacidades, na cumulatividade de seus efeitos e danos e na irreversibilidade de suas consequências. Esse poder da intervenção técnica do homem sobre a natureza, até então inimaginável, se revela no nível de destruição já produzido e do quanto de vulnerabilidade ainda lhe pode ser imposto:

O poder se tornou autônomo, enquanto sua promessa de salvação, em apocalipse. Torna-se necessário agora, a menos que seja a própria catástrofe que nos imponha um limite, um poder sobre o poder – a superação da impotência em relação à compulsão do poder que se nutre de si mesmo na medida de seu exercício. (Jonas, 2006, p. 37).

Esse poder que se mostra ilimitado em capacidade de fazer e subjugar a tudo e a todos, liberto de uma ética que oriente seus propósitos e guie suas ações e desprovido de uma visão de longo alcance que o comprometa e o obrigue para com o futuro, impõe uma nova responsabilidade totalmente diferente de até então:

Por meio de seus efeitos, ela nos revela que a natureza da ação humana foi modificada de fato, e que um objeto de ordem inteiramente nova, nada menos que a biosfera inteira do planeta, acresceu-se àquilo pelo qual temos de ser responsáveis, pois sobre ela detemos poder [...] a natureza como uma responsabilidade humana é seguramente um *novum* sobre o qual uma nova teoria ética deve ser pensada. (Jonas, 2006, p. 39).

Da mesma forma que Potter, Jonas aponta que a ética, a que necessitamos, deve ser capaz de lidar com não apenas com os problemas do presente, mas também e principalmente com os problemas que as ações do presente causarão ao futuro. Ocorre que, como diz Jonas, há um hiato entre a capacidade de prever o futuro e o

poder do agir, o poder da técnica, ou se quisermos usar os termos de Potter, da ciência, do conhecimento<sup>78</sup>, que se revela na ignorância:

O hiato entre a força da previsão e o poder do agir produz um novo problema ético. Reconhecer a ignorância torna-se, então, o outro lado da obrigação do saber. (Jonas, 2006, p. 41).

A partir destes elementos, Potter estrutura o conceito de conhecimento perigoso, que poderíamos dizer, decorre de cinco fatores: 1º a alta especialização do conhecimento, desprovido de um conhecimento mais amplo da própria ciência, da sociedade e do mundo; 2º um excesso de conhecimento pulverizado, descontrolado e desconectado; 3º um conhecimento ausente de uma crítica em relação as consequência para o futuro; 4º um conhecimento que se julga neutro e que não leva em conta os usos e consequências do que seja possível fazer a partir dele; 5º um conhecimento que se assume como poder e se torna disponível a ele sem reservas. Em certo sentido, o conhecimento perigoso decorre da forma como ele é produzido no mundo, da aplicação que se faz dele e da ignorância destes dois elementos. Nas palavras de Potter: o conhecimento perigoso é aquele “que se acumulou mais rápido do que a sabedoria para o administrar”. (Potter, 2016, p. 95). Jonas vai dizer que a experiencia prática tem demonstrado que os projetos tecnológicos com objetivos de curto prazo, como o são em geral a maioria, à medida em que são desenvolvidos, tendem a adquirir uma espécie de autonomia, uma dinâmica compulsiva de crescimento autopropulsionado - daquele tipo a que Potter vai se referir como “mais e melhor”, que se acumula sob a crença de que todo conhecimento é bom e tende ao bem, mas que com efeito é desprovido de sabedoria - que tende a se tornar irreversível. Diante dessa marcha avassaladora da técnica e de seu poder irresistível “temos liberdade de dar o primeiro passo, mas nos tornamos escravos do segundo e de todos os passos subsequentes”. (Jonas, 2006, p. 78). Esse parece ser o caso do Projeto Manhattan e talvez possa ser a gênese de CRISPR.

Por certo, um dos elementos mais presentes e persistentes, e talvez o elemento fundante de ambas as construções éticas, tanto em Potter como em Jonas é a profunda preocupação com os impactos possíveis e altamente negativos que a tecnologia de nosso tempo poderá causar ao futuro. Ambos elaboram suas

---

<sup>78</sup> “O conhecimento pode se tornar perigoso nas mãos de especialistas que carecem de um contexto suficientemente amplo para conceber todas as implicações de seu trabalho”. (Potter, 2016, p. 89).

perspectivas éticas a partir da necessidade imperiosa de prospectar esses futuros, que podem ou não se realizar, para se vislumbrar quais deles ameaçam a humanidade, o meio ambiente, a biosfera como um todo. Ambos vão incorporar em suas teorias mais um elemento novo incomum, além dos que já apresentamos: o medo, vez por outra transmutado em prudência. No entanto, neste ponto cada um segue perspectivas diferentes.

Potter vai fazer uma abordagem trazendo para o debate a ameaça à sobrevivência, a ignorância perigosa e o conhecimento perigoso, ainda que sob o viés da biologia. Jonas, embora também trabalhe esses temas, bem verdade que sob outra perspectiva, a da filosofia, vai introduzir a heurística do medo como parâmetro ético para o controle do agir frente as ameaças dos futuros possíveis. Mas note-se que não se trata do medo comum que se constrói em contraposição a ameaça iminente, que é muito eficiente para controlar o agir, mas tem alcance limitado ao momento presente. Visto que o futuro não pode apresentar-se como ameaça iminente - tanto porque aí não seria futuro, como porque decorre de possibilidades que podem ou não se realizar, de incertezas -, a heurística do medo é em essência um exercício intelectual especulativo acerca das possíveis consequências da técnica que se apresentam como ameaças: “Quanto mais no futuro longínquo se situa aquilo que se teme, quanto mais distante do nosso bem-estar ou mal-estar, quanto menos familiar for o seu gênero, mais necessitam ser diligentemente mobilizadas a lucidez da imaginação e a sensibilidade dos sentidos” (Jonas, 2006, p. 352), e é nela que se funda a prudência: “O medo que faz parte da responsabilidade não é aquele que nos aconselha a não agir, mas aquele que nos convida a agir”. (Jonas, 2006, p. 351).

Este medo tem na esperança sua contraparte, a esperança de se evitar o mal; não se confunde com a covardia, ainda que possa ter na angústia a sua revelação. Aliás, aponta Jonas, convém observar que as incertezas que a tecnologia moderna apresenta são de um tipo de perigo totalmente novo, com o qual as éticas tradicionais não são capazes de lidar e o próprio conhecimento tem dificuldade de prospectar em termos de futuro. Sob esta perspectiva, a heurística do medo pode se realizar independentemente do conhecimento, não porque seja ela irracional ou emocional, mas porque o ser humano tem uma capacidade, uma prontidão inata de saber identificar o mal, mesmo que na sua ausência e sem a experiência da sua contraface; diferentemente do bem, que, em regra, somente somos capazes de reconhecer em decorrência de sua perda ou em contraposição ao mal. Este talvez seja um daqueles

pontos de maior complementariedade entre Potter e Jonas e certamente é um dos pontos centrais para que se possa avaliar eticamente a edição genética como tecnologia, cujo poder extremo pode mudar o mundo de formas jamais vistas e algumas até inimagináveis.

#### **2.4.3 Da técnica à sabedoria e à responsabilidade: um dever para com o futuro**

Mas o futuro não está representado em nenhuma instância; ele não é uma força que possa pesar na balança. Aquilo que não existe não faz nenhum *lobby*, e os não nascidos são impotentes [...] quando aqueles puderem reivindicá-las, nós, os responsáveis, não existiremos mais. (Jonas, 2006, p. 64).

Muito do que caberia discutir aqui, inevitavelmente já o fizemos nas páginas anteriores, vez que o tema da responsabilidade é elemento central tanto em Potter como em Jonas, e não poderia ser diferente em se tratando do debate acerca de uma ética que tem como propósito garantir a sobrevivência futura do planeta, para usar uma terminologia Potteriana, o que implica, necessariamente, estabelecer a responsabilidade das gerações presentes em garantir um futuro autêntico; para usar uma terminologia Jonásiana, que não seja afetado negativamente ou inviabilizado pela técnica. Por esta razão, trataremos aqui de abordar algumas questões adicionais que complementam o entendimento do papel fundamental da responsabilidade e da sabedoria frente ao futuro. (Jonas, 2006; Potter, 2016). Desnecessário lembrar que a magnitude do poder de CRISPR, das possibilidades que emergem da técnica, e das consequências e implicações diante do futuro são de uma dimensão tão ampla que não parece admissível discutir os aspectos éticos da técnica sem tratar da questão da responsabilidade das gerações presentes para com o futuro.

Uma das questões primeiras que se coloca diz respeito às escolhas que fazemos, e se ao fazê-las, podemos (se temos o direito de) comprometer os interesses e o futuro daqueles que ainda não existem, e que, portanto, não podem reivindicar direitos ou cobrar obrigações das gerações que os antecederam. (Jonas, 2006). Por certo que esta é uma das questões éticas inerentes à pesquisa científica e especialmente importante para nosso debate acerca da edição gênica. Vivemos numa sociedade globalizada, onde tudo e todos estão conectados sob várias formas e vias diferentes. O que acontece em algum lugar do mundo, não raras vezes tem reflexos em outro. O “efeito borboleta” parece ecoar nas relações entre comunidades, entre nações e também entre sistemas biológicos, sejam eles ecossistemas ou

microbiomas. Nesse “[...] entrelaçamento indissolúvel dos assuntos humanos, bem como de todas as coisas, não se pode evitar que o meu agir afete o destino de outros; logo, arriscar aquilo que é meu significa sempre arriscar também algo que pertence a outro e sobre o qual, a rigor, não tenho nenhum direito”. (Jonas, 2006, p. 84).

Evidentemente que dentre as inúmeras circunstâncias vividas e por viver na longa jornada da experiência humana, há que se perguntar se não haverá aquelas em que seja justificável optar por colocar em risco uma grandeza maior em favor de um bem ainda maior. Jonas aponta duas reflexões diametralmente opostas, mas capitais nesse assunto. A primeira se refere àquelas situações em que o dano que possa ser causado pela não ação supera o dano da ação:

Assim surgem as decisões terríveis, mas moralmente defensáveis, sobre guerra e paz: para o bem do futuro, se aposta o próprio futuro [...] pela ameaça de um futuro terrível: não para conquistar um bem maior (o que talvez não passe de arrogância), mas apenas para afastar um mal extremo. A última consideração tem a primazia, e somente ela tem como desculpa a necessidade, pois se pode viver sem o bem supremo, mas não com o mal extremo. (Jonas, 2006, p. 85).

A segunda diz respeito ao impulso incontrollável de dominar a evolução e a natureza, traduzido numa busca frenética pela perfeição, que põe em risco todos aqueles que por ela podem ser afetados, inclusive as gerações futuras:

Porque estes [os grandes riscos da tecnologia] não são assumidos com a finalidade de salvar o que existe ou abolir o insuportável, mas para melhorar permanentemente o já alcançado, isto é, para o progresso, cuja versão mais pretenciosa pretende construir um paraíso terrestre. Assim, o progresso e suas obras situam-se antes sob o signo da soberba que da necessidade. A renúncia a algumas de suas promessas diz respeito ao que excede o necessário, ao passo que sua realização poderia afetar o próprio incondicionado [a própria essência humana]. (Jonas, 2006, p. 85).

Com efeito, em Potter, a responsabilidade assume contornos de um dever que mira o futuro na busca pela sobrevivência, busca esta que deve ser alcançada pelo conhecimento e que só pode ser conduzida pela sabedoria. (Potter, 2016). Em Jonas, a responsabilidade assume uma forma mais definida, ela também é um dever, mas não um dever facultativo e sim um dever incondicional, porquanto decorre de um dever incondicional da humanidade de existir. Dito de outra forma, a humanidade tem um dever imperativo de existir e disto decorre um dever correspondente, portanto imperativo, uma responsabilidade incondicional de garantir a sua existência, mas não de qualquer existência, e sim de uma existência autêntica, verdadeira: “Age de modo a que os feitos da tua ação sejam compatíveis com a permanência de uma autêntica

vida humana sobre a terra”. (Jonas, 2006, p. 47). Trata-se, em última análise de um “dever primário do Ser, em oposição ao nada” (Jonas, 2006, p. 87), ou seja, existir é um imperativo<sup>79</sup>. Nesse sentido, a responsabilidade é um princípio imperativo, um “dever de ser capaz de se atribuir este dever” (Jonas, 2006, p. 93), e por isso mesmo não pode ser decorrente nem de um direito, nem tampouco de um dever de reciprocidade:

Daí resulta que o primeiro princípio de uma “ética para o futuro” não se encontra nela própria, como doutrina do fazer (à qual pertencem aliás todos os deveres para com as gerações futuras), mas na metafísica, como doutrina<sup>80</sup> do ser, da qual faz parte a ideia do homem. (Jonas, 2006, p. 95).

Esta abordagem dada por Jonas, que poderíamos dizer, é mais um ponto em que ele e Potter se complementam, revela uma preocupação singularmente relevante para o nosso debate, vez que transcende a preocupação da sobrevivência, porquanto espécie biológica, em direção a preocupação com a sobrevivência de uma existência autêntica, de uma humanidade verdadeira, de uma essência que diz como o ser é. Isto nos conecta diretamente ao debate sobre melhoramento pela via da edição gênica, tema que iremos abordar mais adiante e que resgata o que dissemos anteriormente sobre perfeição:

Pode-se dizer que os perigos que ameaçam o futuro modo de ser são, em geral, os mesmos que, em maior escala, ameaçam a existência; por isso, evitar os primeiros significa a *fortiori* evitar os outros. (Jonas, 2006, p. 91)

Esse poder singular de que fala Jonas, um poder ilimitado, de uma tal magnitude a ponto de poder ameaçar a própria existência autêntica, encerra em si um igual dever de responsabilidade pelo seu agir, pelo que pode dar causa. Lembrando a citação de Potter a respeito da liberdade da ciência<sup>81</sup>, Jonas oferece a contraparte que lhe é devida: “a mais sublime e desmedida liberdade do eu conduz ao mais

---

<sup>79</sup> Ainda que no campo da individualidade, e apenas neste caso, seja facultativo optar pelo “não existir”. (Jonas, 2006).

<sup>80</sup> Esta transcendência em Jonas não se traduz no dualismo tradicional das religiões e de algumas filosofias, que pressupõe uma “alma”, um “espírito” ou algo equivalente; mesmo porque ele vai afirmar que “o ser, ou a natureza, é uno e presta testemunho de si naquilo que permite emergir de si. (Jonas, 2006, p. 134). De toda forma, não avançaremos nesta discussão, que não é nem pequena e nem simples, vez que sintetiza um dos mais antigos e insolúveis debates da filosofia. Solucionar esta questão traria impactos inimagináveis para as humanidades e para as ciências, no entanto, admitimo-lo, está não apenas além de nossa pretensão, mas muito além de nossa capacidade.

<sup>81</sup> “Nossa época descobriu como divorciar o conhecimento do pensamento, com o resultado que temos, de fato, uma ciência que é livre, mas dificilmente uma ciência que reflete”. (Potter, 2016, p. 70 apud Schweitzer, 1947, p. 18).

exigente e inclemente dos deveres”. (Jonas, 2006, p. 173). Aliás, um dever que é irrenunciável e incondicional, vez que está irremediavelmente vinculado ao existir (um dever imperativo) na plenitude do tempo, e não às condições da existência ou à consciência dela no imediatismo do momento presente, o que implica num dever de responsabilidade total pelo existir, que compreende e se vincula ao passado e sobretudo ao seu futuro. As consequências disto para efeito da pesquisa gênica e, evidentemente, não apenas para ela, são óbvias.

De fato, o poder da técnica chegou a um potencial de destruição de tal ordem que o futuro da natureza, e por consequência, o futuro da humanidade, se tornou o seu primeiro dever: “o homem se tornou perigoso não só pra si mesmo, mas para toda a biosfera”. (Jonas, 2006, p. 229). Disto decorre um dever baseado na solidariedade de destino entre homem e natureza, visto que compartilham o mesmo perigo diante da “técnica toda poderosa” (Jonas, 2006, p. 228):

Nascido do perigo, esse dever clama, sobretudo, por uma ética da preservação, da preservação e da proteção, e não por uma ética do progresso ou do aperfeiçoamento. Apesar da modéstia de seu objetivo, seu imperativo pode ser muito difícil de ser obedecido, e talvez exija mais sacrifícios do que todos aqueles que visam a melhorar a sorte da espécie humana. (Jonas, 2006, p. 232).

Em Potter (2016, p. 197), a sabedoria, definida como “o conhecimento de como usar o conhecimento para o bem social”, é o caminho para dominar esse poder que ameaça o futuro e garantir a sobrevivência; um caminho que une o conhecimento das ciências com o conhecimento das humanidades, e que pode ser alcançado: “O que estamos defendendo é o uso do método científico na busca da sabedoria, isto é, assumimos que a sabedoria pode ser encontrada da mesma maneira que outros conhecimentos”. (Potter, 2016, p. 71). Nesse sentido, Potter recorrendo a Lilienthal, mas a ele acrescentando, vai defender que a ciência pode contribuir para uma grande revolução ética equiparável ao que representou à revolução experimentada pela física moderna: “Sustentamos que o conceito científico-filosófico de progresso que enfatiza a sabedoria de longo alcance é o único tipo de progresso que pode conduzir à sobrevivência”. (Potter, 2016, p. 74). Jonas vai atribuir equiparado valor ético à sabedoria, ainda que neste ela não seja o elemento central de uma ética para o futuro, mas sim a responsabilidade:

[...] o saber torna-se um dever prioritário [...] deve ter a mesma magnitude da dimensão causal do nosso agir. Mas o fato de que ele realmente não possa ter a mesma magnitude, isto é, de que o saber previdente permaneça atrás

do saber técnico que confere poder ao nosso agir, ganha ele próprio, significado ético. (Jonas, 2006, p. 41).

De mais a mais, em Jonas, a sabedoria talvez não tenha exatamente a mesma natureza que em Potter, e talvez até a considere muito menos tangível:

A escala inelutavelmente “utópica” da moderna tecnologia leva a que se reduza constantemente a saudável distância entre objetivos cotidianos e últimos, entre as ocasiões em que podemos utilizar o bom senso ordinário e aquelas que requerem uma sabedoria iluminada [...] somos permanentemente confrontados com perspectivas finais cuja escolha positiva exige a mais alta sabedoria – uma situação definitivamente impossível para o homem em geral, pois ele não possui essa sabedoria, e para o homem contemporâneo em particular, que até mesmo nega a existência de valor absoluto e de verdade objetiva. Quando mais necessitamos de sabedoria é quando menos acreditamos nela. (Jonas, 2006, p. 63).

A despeito destas nuances entre os autores, que como dito, não poderemos adentrar com mais profundidade, por mais tentador que possa ser; o que nos cumpre mais uma vez assinalar é que para ambos, a tecnologia moderna, o modelo de sociedade tecnológica que vivemos, a seguir o rumo e o ritmo atual, representa uma ameaça de dimensões jamais vistas, não apenas para o ser humano, mas para toda a biosfera, de modo que a sobrevivência, nem de um, nem de outro, estão garantidas, ainda que a ordem dos fatores, neste caso, faça uma imensa diferença:

Conter tal progresso deveria ser visto como nada mais do que uma precaução inteligente, acompanhada de uma simples decência em relação aos nossos descendentes. Se não o fizermos, a natureza o fará, de maneira terrível. (Jonas, 2006, p. 349).

A última questão que consideramos registrar diz respeito ao modo de como realizar este projeto de ética para a vida no mundo real, não apenas para a vida humana, mas para todas as vidas do nosso planeta. Potter vai trilhar um caminho pelo que ele denomina “Conselho do Futuro” dentro da estrutura de poder atual. Jonas vai buscar na crítica às utopias e nas experiências históricas do capitalismo e do socialismo um caminho possível. Lamentavelmente, analisar estas questões está fora de nosso alcance, mas elas precisarão ser consideradas com profundidade e dedicação, sobretudo se concordarmos que do vasto campo da ética e da bioética, estas talvez sejam as que nos restem para dar conta da tarefa que as gerações do futuro nos incumbiram: o dever de lhes garantir uma existência verdadeiramente autêntica:

Esta é a perspectiva apocalíptica que se insere de forma previsível na dinâmica do atual curso da humanidade. Devemos compreender que



estamos diante de uma dialética que só poderá ser enfrentada graças a uma escalada em termos de poder, e não com uma renúncia quietista ao poder. (Jonas, 2006, p. 236).

O espírito da responsabilidade rejeita o veredito prematuro da fatalidade por ter assumido o rumo “da história” [...] ao princípio esperança, contrapomos o princípio responsabilidade, e não o princípio medo. Mas certamente, o medo pertence à responsabilidade, tanto quanto a esperança. (Jonas, 2006, p. 350–351).

Alguns dirão que Potter e Jonas ultrapassam o campo da teoria ética para adentrar no cediço espaço do ativismo, e talvez até os acusem de um certo ideologismo incompatível com a necessária liberdade para se fazer ciência. Por outro lado, qual ciência é neutra? Quando as escolhas feitas nas bancadas dos laboratórios estiveram desprovidas de sonhos, desejos, intensões, propósitos, interesses, alguns destes até permeados de conflitos? O fazer ciência invariavelmente reflete uma visão de mundo e de sociedade e aponta sempre para um caminho e uma direção dentre tantas possíveis, e não há como renunciar essa ambivalência que é da própria natureza da liberdade do agir. Dessa ambivalência do agir livre decorre uma ambiguidade latente nos produtos deste agir, dentre eles do fazer ciência. E se o fazer ciência, como construção humana baseada na liberdade, é ambivalente na origem do agir, e se os produtos desta ação são ambíguos, decorre disso o dever de se assumir responsabilidade por todas as suas possibilidades resultantes, vez que ele (o agir) é sempre uma escolha. Mas, no caso do fazer ciência, as possibilidades desproporcionais de seus efeitos no tempo e no espaço não permitem que se exima ou se esquive de qualquer responsabilidade. A convergência dos pensamentos Potteriano e Jonesiano, fundado na responsabilidade como princípio norteador do agir, baseado em uma sabedoria capaz de orientar as escolhas (a liberdade) que leve à sobrevivência autêntica do ser humano e de toda a biosfera, pode ser um instrumento valioso de uma ética capaz de orientar a pesquisa gênica, inclusive a pesquisa com CRISPR.

### 3 ANÁLISE DOS RESULTADOS

“Eu também acho que os cientistas de hoje poderiam estar melhor preparados para pensar e moldar as consequências sociais, éticas e ecológicas de seu trabalho.” (Doudna, 2015a, tradução nossa).

De fato, em boa medida, CRISPR parece ser uma das mais importantes revelações da biotecnologia nas últimas décadas. (Cong *et al.*, 2013; Jinek *et al.*, 2012). Dotada de um poder real para editar genes, virtualmente, ao menos em tese, de qualquer organismo ou célula, com nível de precisão superior a todas as demais técnicas de edição gênica, comparativamente a elas, é de longe a mais barata e de maior facilidade de aplicação. (Guerrero, 2018; Lacadena, 2017; Maeder e Gersbach, 2016; The Hinxton Group, 2015). É possível projetar em software o pacote de edição contendo toda a ferramenta CRISPR-Cas9, incluído o vetor de transporte e fazer o pedido através da internet para recebê-lo pelo correio em qualquer lugar do mundo, em questão de dias. Kits de edição estão disponíveis e de fácil acesso a preços módicos, para qualquer pessoa que tenha interesse, sem maiores restrições, em diversos fornecedores como a New England Biolabs <<https://international.neb.com>>, OriGene <<https://www.origene.com>> e Addgene (2018). Projetos de edição de genes, que com outras ferramentas levam meses para serem realizados, podem ser feitos em dias. (Lacadena, 2017). Todo esse poder e facilidades vêm abrindo oportunidade para que centenas de pesquisadores em todo o mundo possam ter acesso à tecnologia e fazer avançar muito mais rapidamente, tanto pesquisas básicas como a pesquisa aplicada, nos mais variados campos de interesse, como na medicina, na indústria, na agricultura e na pecuária. (Kuiken, 2016). A lista de produtos que se espera, sejam desenvolvidos a partir desta biotecnologia, incluem melhoramento genético de espécimes de interesse comercial, microrganismos editados geneticamente para correção ou biorremediação de ambientes degradados ou para varrer do planeta vetores transmissores de doenças endêmicas e epidêmicas, produção de derivados orgânicos para diversos usos humanos e animal, vacinas e terapia gênica para uma infinidade de doenças geneticamente herdadas ou adquiridas, só para citar alguns exemplos. (Barrangou *et al.*, 2007). Enfim, a lista de possibilidade de usos e aplicações é imensa e apesar do tempo decorrido desde a descoberta da técnica ser muito reduzido, apenas 6 anos, vários testes clínicos já estão em andamento e diversos produtos começam a surgir no mercado, sem contar a lista de pedidos de patente já aprovados ou aguardando registro e licença, revelando

um outro lado de CRISPR que chegou a ser chamado de “a mina de ouro da biotecnologia”. (Erp, van *et al.*, 2015; Kosicki, Tomberg e Bradley, 2018; Sherkow, 2015; Waizbort, 2001).

Mas CRISPR tem outra dimensão igualmente surpreendente. Todo esse poder, toda essa facilidade e simplicidade de uso (evidentemente que comparativamente às demais técnicas), aliada ao baixo custo envolvido na pesquisa tem trazido dois efeitos secundários: por um lado tem provocado uma impressionante ampliação do acesso ao processo de P&D neste campo, o que por si só já é um feito incrivelmente positivo para a democratização do saber (Lacadena, 2017), e não nos esqueçamos que saber é poder; e de outro lado provocou o deslocamento do debate sobre edição gênica, em especial em linhagem germinativa e para fins de melhoramento humano, que até então era considerado tema de fronteira da ciência, para tema do momento presente. (Regalado, 2015; Lanphier *et al.*, 2015; Baltimore, Baylis, *et al.*, 2015; Reardon, 2015; Baltimore, Berg, *et al.*, 2015; Charpentier, 2015; Dujon, 2017; Reardon, 2016; Porteus e Dann, 2015; Reyes e Lanner, 2017; MO, 2015; Ormond *et al.*, 2017).

Todo este ânimo em torno desta boa nova da biotecnologia tem ressonância profunda na sociedade, para quem a morte tem pressa e não há tempo a perder. As doenças de origem genética, transmitidas por herança ou adquiridas ao longo da vida, entre elas as síndromes e as doenças raras, as enfermidades de origem viral ou bacterianas, muitas delas letais, afligem milhões de pessoas em todo o mundo. Muitas dessas doenças não têm cura e nem tratamento, e não raras vezes sequer diagnóstico. Os dados impressionam: só para se ter uma ideia, como dissemos no início, estima-se que existam 7 mil tipos de doenças raras que atingem entre 6% e 8% da população mundial, algo entre 420 a 560 milhões de pessoas. Anualmente, 700 mil pessoas morrem de infecções incontroláveis e 8,8 milhões morrem de câncer. Isso sem contar a AIDS, que já matou milhões de pessoas em todo o mundo e epidemias terríveis como o ebola e a Febre do Oeste do Nilo. (BBC Brasil, 2013; ONU Meio Ambiente, 2017; UN Environment, 2017b; OPAS/OMS, 2017a; Velji e Bryant, 2015; ONU - Brasil, 2016a; ONU - Brasil, 2014; ONU - Brasil, 2016h; ONU - Brasil, 2016i). A lista de agentes patogênicos prioritários para P&D divulgada em 2018 pela OMS e que talvez possam ser debeladas com CRISPR, incluem o vírus ebola e febre hemorrágica de Marburgo; febre de Lassa; síndrome respiratória coronavírus do Oriente Médio (MERS) e síndrome respiratória aguda severa (SARS); infecção pelo

vírus Nipah e doenças relacionadas aos henipavírus; febre de Vale do Rift e vírus zika, além de outros de menor impacto epidemiológico. (OPAS - OMS, 2018). De outro lado, as possibilidades inimagináveis de melhorias no perfil fenotípico do ser humano aguçam os sonhos do “homem do futuro”, perfeito em forma e pleno em habilidades e aptidões, dotado do mais desenvolvido talento em todas as formas de expressão humana, liberto de todas as limitações de um genótipo imperfeito, a biotecnologia de CRISPR parece prometer corrigir a natureza e suplantar a evolução. O homem, finalmente pleno e absoluto, poderá finalmente ocupar o seu lugar no mundo e talvez até deter a finitude.

Grande parte dessa esperança, que até bem pouco tempo era uma utopia, vem assumindo ares de realidade concreta muito rapidamente e talvez não fosse um pequeno detalhe, pudesse andar mais rápido ainda. O detalhe é que a ferramenta molecular apresenta alguns problemas de resultado, dos quais dois se destacam: 1º a incidência de cortes fora do alvo, as chamadas edições *off-target* que se revelaram muito elevadas; 2º o processo de edição não é uniforme, ocasionando mosaicismos. Além disso há uma preocupação em proteger a linha germinal humana, ou pelo menos evitar a geração de embriões viáveis editados com CRISPR até que os problemas sejam superados, bem como prevenir o risco de um possível uso eugênico negativo da técnica. Diversos cientistas e grupos de pesquisa vem discutindo tais preocupações e alguns tem inclusive proposto a adoção de uma moratória voluntária para que se possa ampliar o debate e adotar medidas regulatórias capazes de orientar as pesquisas e prevenir usos inaceitáveis da técnica. (Lanphier *et al.*, 2015; Reardon, 2016; Baltimore, Baylis, *et al.*, 2015; Charpentier, 2015; Dujon, 2017; Porteus e Dann, 2015; Reyes e Lanner, 2017; MO, 2015; Ormond *et al.*, 2017; The Hinxton Group, 2015; Simão-Silva *et al.*, 2017).

É justamente em meio a este ambiente efervescente que emerge o nosso problema central: saber se a ferramenta molecular de edição genética CRISPR-Cas9 é uma oportunidade de resolução para os problemas de saúde, para a cura de doenças adquiridas ou hereditárias, para o aperfeiçoamento das espécies, sobretudo a humana e para a remediação de grande parte da degradação ambiental provocada pelo próprio homem, ou se é uma ameaça biológica de poder e alcance inimagináveis para as gerações presente e futuras.

De partida nos perguntamos se os problemas acima apontados, e que são em geral os que com maior frequência têm sido evocados em artigos e publicações

científicas, são os únicos a serem considerados ou se haveriam outros problemas de naturezas diversas, que aparentemente não estão presentes no debate, mas que também deveriam compor uma análise mais profunda e abrangente.

Com efeito, a prospecção mais ampla dos problemas que emergem de CRISPR, em especial aqueles subjacentes ao conhecimento específico, bem como os que o fundamentam, segundo a sua natureza, origem e especificidades, ajuda a perceber que há de fato aqueles de natureza fundamentalmente ética, que, ao menos em tese, podem ser debatidos à margem do conhecimento específico da técnica, caso por exemplo da eugenia. No entanto há outros de natureza diversa como da biologia, ecologia, sociologia, economia e antropologia, de biossegurança e bioproteção, sem esquecer aqueles decorrentes da genética e da biologia evolutiva e molecular propriamente ditas, bem como outros tantos decorrentes da aplicação da técnica em laboratório, sobretudo na fase de pesquisa, que à primeira vista poderiam sugerir se tratem apenas de problemas técnico-científicos transitórios, mas que um olhar mais atento permite perceber que a maior parte deles tem implicações ética profundas e por isso mesmo precisam ser adequadamente percebidos, definidos, compreendidos, relacionados entre si e delimitados para que possam ser debatidos adequadamente sob o ponto de vista da ética.

É necessário perceber e desnudar as interfaces geopolíticas desses problemas frente a um mundo globalizado, em crise permanente, sobretudo humanitária e de segurança e altamente ambientalmente degradado por um modelo de ocupação humana insustentável. Adiantando o que discutiremos mais à frente, é indispensável projetar estes olhares sob a ótica do tempo, sob a perspectiva dos efeitos cumulativos e das consequências. Este esforço projetado, possibilitará olhar o presente sob a perspectiva do futuro, como se se olhasse o presente a partir das consequências possíveis, não para julgar as escolhas de nosso tempo antes de as fazer, mas para estabelecer as conexões dessas escolhas a partir dos resultados possíveis. Este esforço preditivo, a partir do temor explicitado por Jonas (2006), que é um temor espelhado no futuro como consequência, permitirá estabelecer as causas e responsabilidades do tempo presente. Ao mesmo tempo permitirá perceber que há problemas que apenas aparentemente são técnicos, mas que de fato, se forem considerados no contexto amplo, perceberemos que tem implicações eticamente inaceitáveis, ainda que tecnicamente superáveis.

Para fazer frente a este desafio, partimos de alguns pressupostos e fizemos um amplo caminho de buscas. Os pressupostos que seguimos foram: a) CRISPR deve ser considerada a partir de todas as suas potencialidades e fragilidades e no contexto amplo da ciência, da sociedade e do meio ambiente; b) a eficiência ou ineficiência de CRISPR deve ser considerada para todos os tipos de organismos, procariontes e eucariontes, não apenas para células humanas e de alguns poucos organismos de interesse comercial; c) os efeitos positivos e negativos de CRISPR precisam ser analisados no contexto do organismo, das populações e dos ecossistemas e levar em conta a dinâmica do tempo, do meio ambiente e da evolução, e não apenas no contexto limitado do laboratório e das provas de conceito; d) a análise de riscos e benefícios de CRISPR deve levar em conta todo o conhecimento disponível nas várias áreas do saber e não apenas o conhecimento específico da microbiologia e da genética evocados pelo experimento; e) as considerações sobre efeitos e usos positivos e negativos de CRISPR devem levar em conta o equilíbrio do meio ambiente e as determinantes sociais, políticas, econômicas e regulatórias globais; f) os riscos e ameaças de CRISPR devem ser considerados tanto sob a perspectiva dos produtos que dela possam advir como do ponto de vista do processo de aquisição do conhecimento, da P&D; g) as considerações sobre ameaças e oportunidades, riscos e benefícios que se utilizam de cálculos, de projeções de consequências no tempo e no espaço para os seres vivos e o meio ambiente devem levar em conta que decorrem essencialmente de julgamentos de valor, portanto dependentes fundamentalmente de uma plataforma ética que lhes sirva de parâmetro e base de avaliação - neste sentido, não é a estatística a ferramenta capaz de discernir entre bom ou ruim, entre o bem e o mal, mas sim a ética e, por fim, h) o processo de regulação e acompanhamento das pesquisas e produtos advindos da técnica devem ter abrangência global e incorporar mecanismos de controle social como estratégia privilegiada de diálogo entre ciência e sociedade.

Para darmos conta desses pressupostos buscamos conhecer e entender a ferramenta molecular CRISPR e a técnica de edição, o que ela faz, como funciona e se existem condicionantes evolutivas e biológicas que podem determinar riscos primários ou indiretos que devessem ser considerados. Para tanto revisitamos fundamentos das teorias da evolução, da biologia, da genética, da epigenética, de áreas de integração como biologia evolutiva e genética evolutiva, entre outras. Buscamos conhecer outras técnicas de edição de genes para entender se a discussão

de riscos e benefícios, ameaças e oportunidades poderia ser feita exclusivamente para CRISPR ou se precisaria ser considerada em um contexto mais amplo da edição gênica. Buscamos identificar as publicações que relatam pesquisas e resultados obtidos com experimentos CRISPR para entender a dinâmica da aquisição do conhecimento, tanto do ponto de vista do processo, como do ponto de vista de como ele se realiza no mundo real.

Buscamos também conhecer os requisitos e condicionantes regulatórios de biossegurança e bioproteção para a Pesquisa & Desenvolvimento na área de edição gênica e especialmente para CRISPR, qual é a realidade concreta do e no mundo atual, para vislumbrar qual é de fato a capacidade de respostas a eventos involuntários, inesperados ou intencionais que possam ter consequências para o ser humano, para as espécies e para o meio ambiente. Por fim buscamos conhecer o debate que se realiza neste momento sobre CRISPR para vislumbrar as questões técnicas e éticas que têm sido pautadas e entender quais os elementos que vêm sendo considerados, quais as posições e encaminhamentos que se avizinham e quais os argumentos que os sustentam.

Apresentamos no quadro a seguir (figura 7) um resumo desta jornada no intuito de visualizar os principais elementos e relações que neste estudo relacionam as ameaças e oportunidades apontadas. Não se trata de um quadro definitivo ou completo, vez que pode ser ampliado, melhorado e ajustado à medida em que mais conhecimento e outras perspectivas venham a ser acrescentadas, mas de toda forma ajuda a termos um panorama geral desta reflexão.

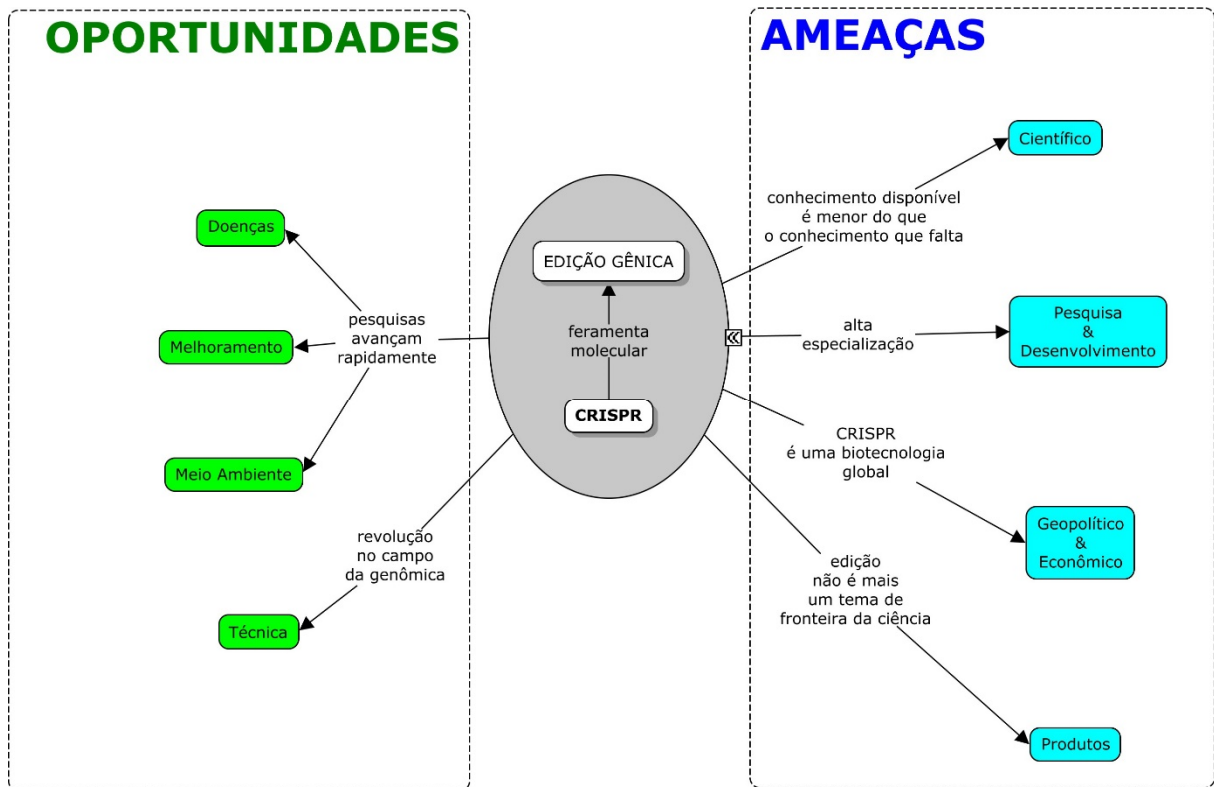


Figura 7 - Mapa conceitual ameaças e oportunidades de CRISPR - síntese



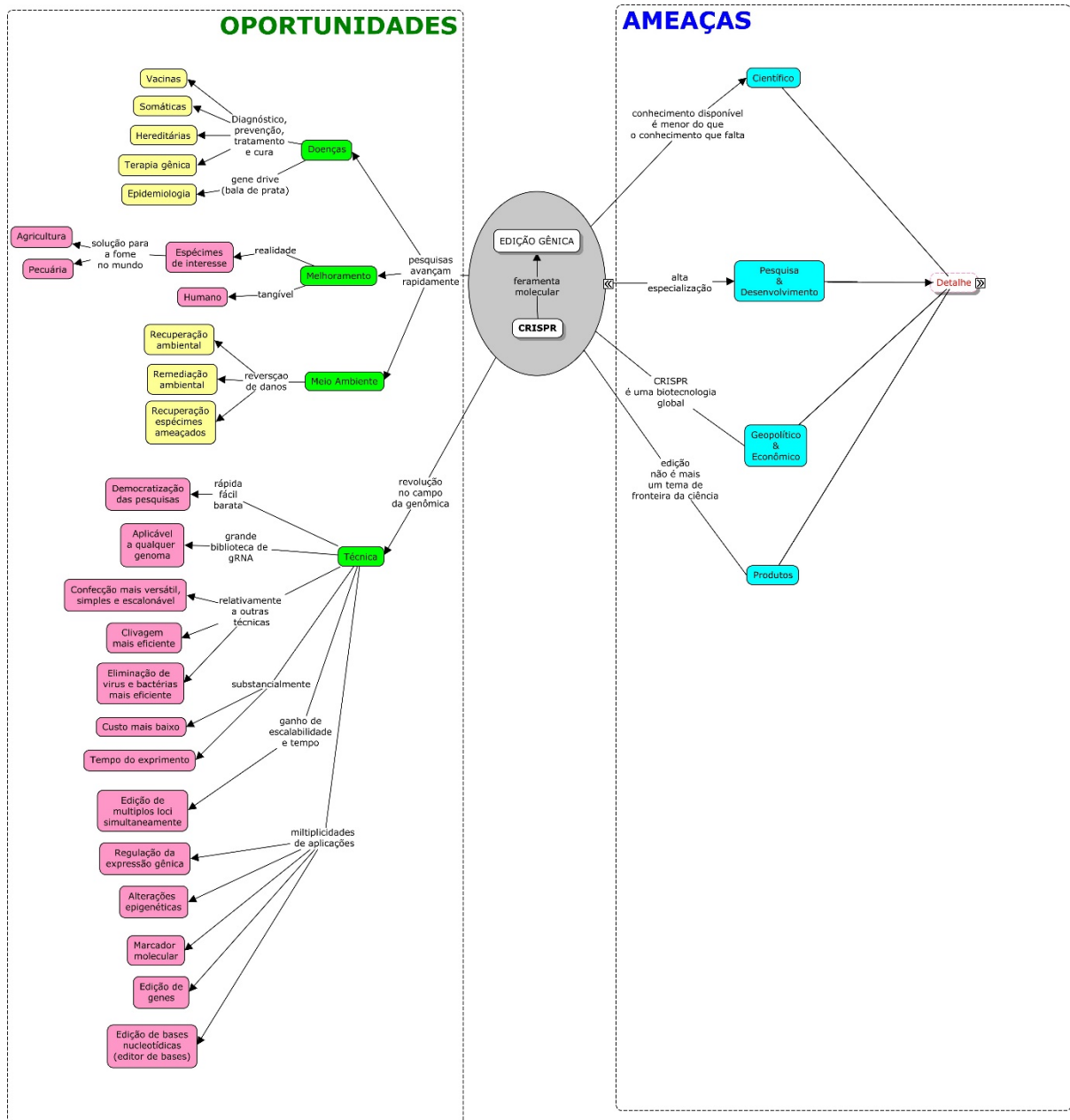


Figura 8 - Mapa conceitual ameaças e oportunidades de CRISPR - detalhe oportunidades

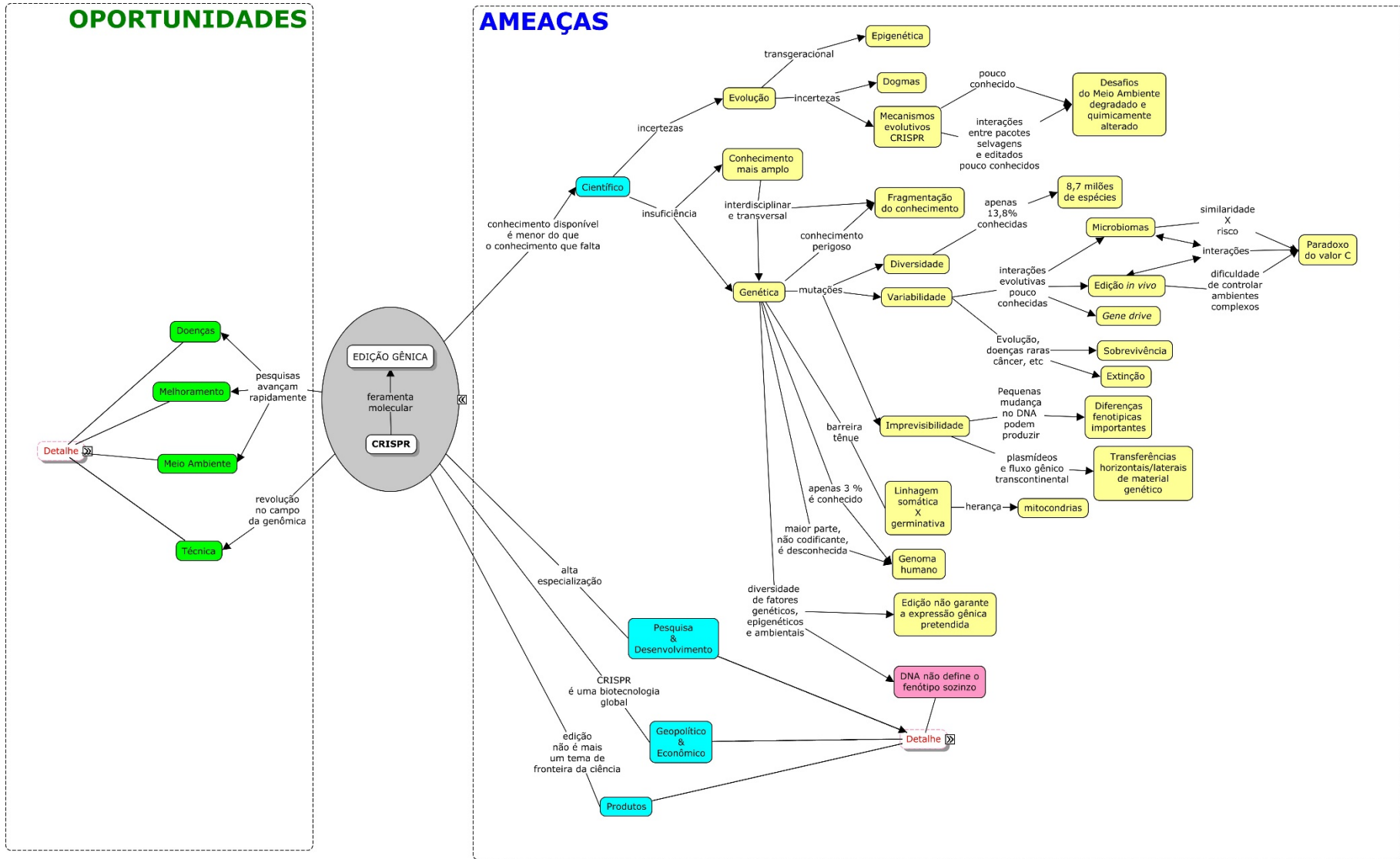


Figura 9 - Mapa conceitual ameaças e oportunidades de CRISPR - detalhe 1 - ameaças

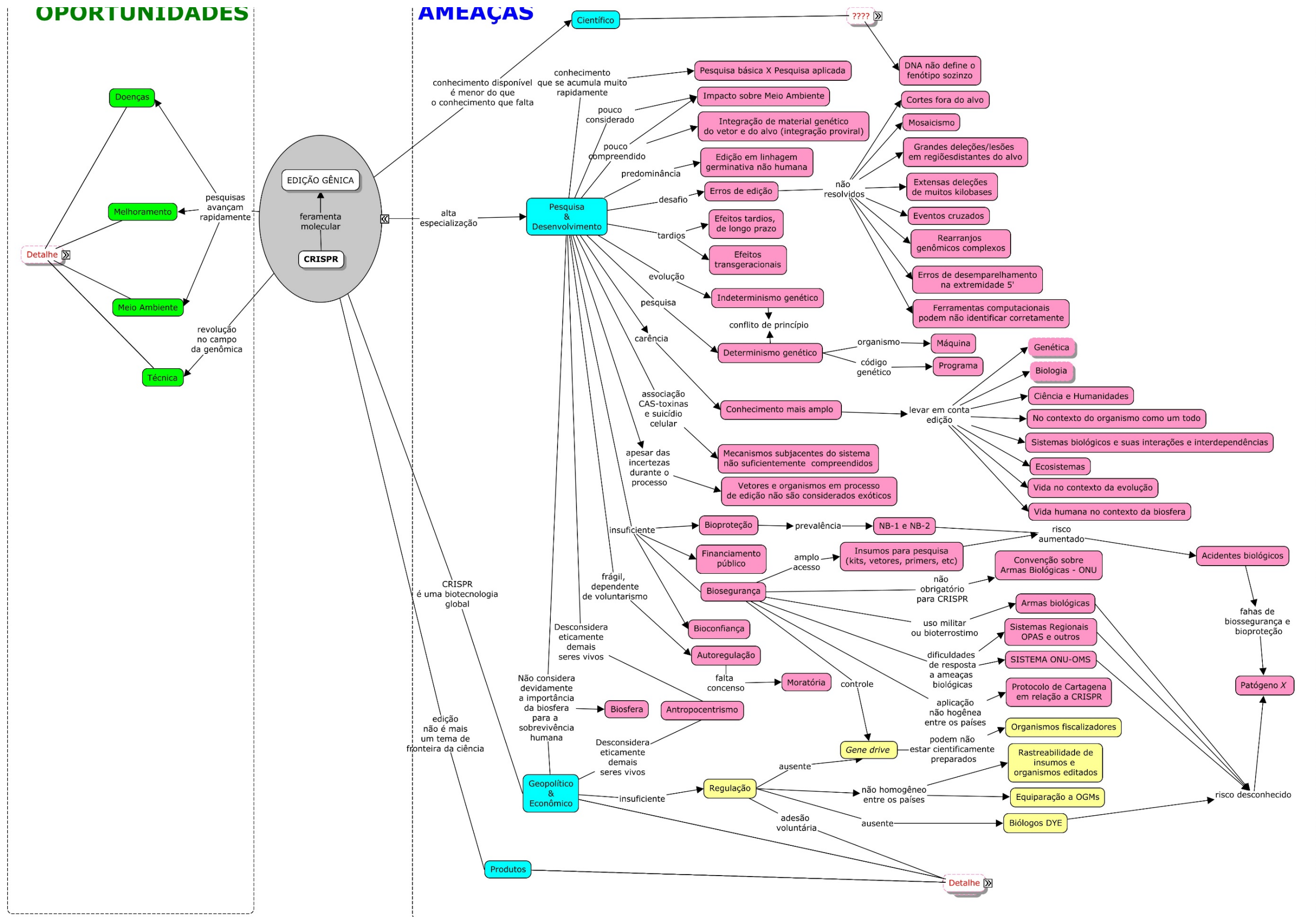


Figura 10 - Mapa conceitual ameaças e oportunidades de CRISPR - detalhe 2 - ameaças



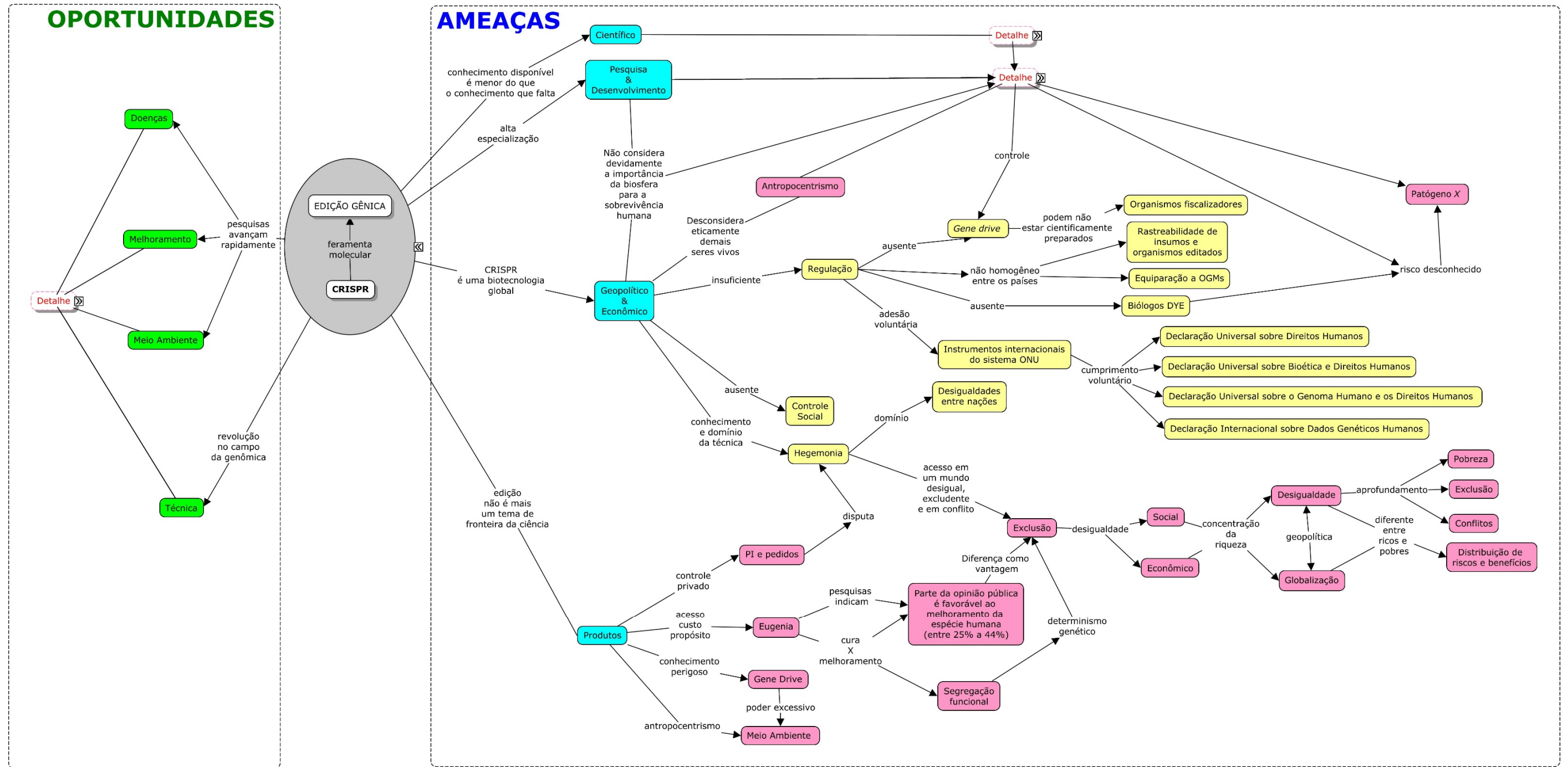


Figura 11 - Mapa conceitual ameaças e oportunidades de CRISPR - detalhe 3 - ameaças

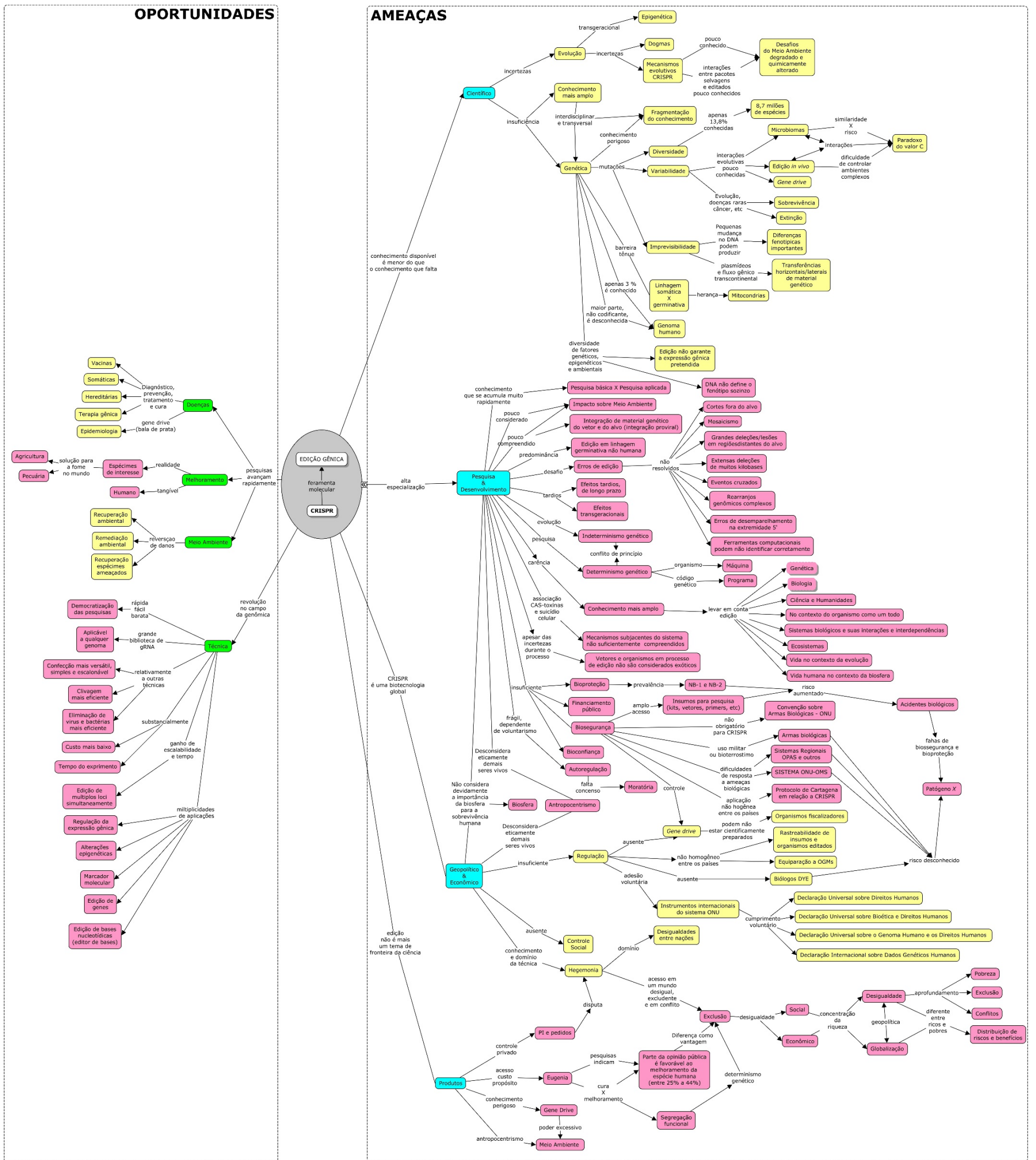


Figura 12 - Mapa conceitual ameaças e oportunidades de CRISPR – quadro geral

Pressupomos que olhar todo o conhecimento acumulado, recorrendo às demais áreas da genética, da biologia, da paleontologia, da bioquímica, da biofísica, da filosofia, da ciência política, dos direitos humanos e enfim, das demais áreas, não é uma forma de dizer não à edição genética, com ou sem CRISPR-Cas, muito pelo contrário, é uma forma de dar segurança ao sim, mesmo porque negligenciar todos os riscos vai muito além da ignorância perigosa que de fala Potter.

Feitas estas considerações, é chegada a hora de reunir tudo o que discutimos até aqui e refletir sobre as implicações éticas que nos apontarão os riscos e benefícios, as ameaças e oportunidades que decorrem da técnica CRISPR-Cas9:

1º A Teoria da Evolução, apesar da sua aceitação quase hegemônica, contém pontos de fragilidade e lacunas explicativas em seus fundamentos que vêm sendo repensadas a partir de outros conhecimentos, tanto fora como no interior da própria teoria, a exemplo da epigenética e da *Teoria do Equilíbrio Pontuado*, de teóricos como Stephen Jay Gould e Jablonka, de modo que o conhecimento que temos até o momento não parece ser suficiente nem para entender todo o passado, nem para prever todo o futuro. (Bird, 2007; Bonduriansky e Day, 2009; Bradbury, 2003; Costa e Pacheco, 2012; Dennett, 1998; Fantappie, 2013; Felizardo, 2006; Futuyama, 1992; Genetic Science Learning Center, 2013; Gould e Vrba, 1982; Jablonka, 2011; Jablonka e Lamb, 1989; Leakey, 1997; Souza, 2005; Youngson e Whitelaw, 2008). Dito de outra forma, se por um lado não detemos todo o conhecimento necessário para explicar como a evolução funciona, por outro, nos falta conhecimento para prever como bactérias e seu sistema imunológico CRISPR-Cas evoluirão a partir das modificações feitas em laboratório e que consequências podem advir ao longo de várias gerações. Da mesma forma, não temos o conhecimento suficiente para prever com segurança como interferências artificiais em linhagem germinativa das espécies em geral interferirão nas suas linhas evolutivas, nos seus descendentes e que consequências trarão para seus respectivos ecossistemas.

2º O conhecimento da evolução, da biologia e áreas afins indica que todos os organismos vêm evoluindo a milhões de anos, que nossa espécie é apenas mais uma dentre 8,7 milhões (dos cálculos atuais, sem considerar todas as que já existiram e foram extintas), que nosso organismo não é só nosso, compartilhamos ele com 38 trilhões de microrganismos e dependemos de muitos deles para sobreviver, e que assim acontece com todas as vidas e espécies. Sabemos também que essa convivência compartilhada, seja ela simbiótica ou não, estabelece um equilíbrio muito

frágil e que pode ser facilmente convertida em patológica, a exemplo da *Escherichia coli* e *Streptococcus pneumoniae*. O que não sabemos é como essa intrincada e complexa dinâmica de simbiose ou de mera convivência de oportunidade em microbiomas e macrobiomas reagirão a eventos de interferência por edição com CRISPR. (Cho e Blaser, 2012; Langelier, 2018; Mora *et al.*, 2011; Sender, Fuchs e Milo, 2016).

3º Estudos indicam que CRISPR, uma ferramenta adaptativa autoimune que compõe o sistema imunológico de bactérias e archaea, é capaz de evoluir a partir de mecanismos epigenéticos e por vias incomuns que parecem se conformar mais com a proposta Lamarckista do que com a lógica Darwinista. (Chakraborty *et al.*, 2010; Godde e Bickerton, 2006; Haft *et al.*, 2005; Koonin e Makarova, 2013; Silas *et al.*, 2016; Tomoko, 1995; Yang e Nielsen, 2000). Um desses mecanismos envolve a transferência horizontal de pacotes CRISPR-Cas entre bactérias, por meio de plasmídeos, em similaridade aos mecanismos de resistência cruzada a antimicrobianos - os mesmos plasmídeos que transportam outras características evolutivas entre bactérias, favorecendo a sobrevivência das mesmas com ganhos de tempo e escala. (Chakraborty *et al.*, 2010; Haft *et al.*, 2005). O que não se sabe é se e como a ferramenta molecular de edição preparada em laboratório poderia interagir com seus homólogos selvagens e/ou evoluir e em que direção, em especial os que integram os microbiomas, e que consequências tais eventos poderiam gerar.

4º Pesquisas indicam que pequenas mutações em vírus e bactérias tem capacidade de dotar patógenos de pouca expressão para a saúde animal, incluindo a humana, em agentes dotados de alta capacidade de transmissão, virulência e letalidade, a exemplo de *Yersinia pestis*. (Barros, 2012). Por outro lado, parece correto supor que ferramentas de edição de genes como CRISPR tem potencialmente capacidade real e efetiva de reproduzir este tipo de modificação em patógenos de pouca relevância epidemiológica, de Classe de Risco 1 para Classe de Risco 3 ou 4, seja decorrente de uma edição malsucedida, seja como um acidente ou propositalmente, ou mesmo como consequência adaptativa inesperada de uma modificação de início aparentemente inerte e que pode até não ser percebida pelo pesquisador e/ou se manifestar apenas tardiamente.

5º Estudos apontam que alguns plasmídeos são transcontinentais e altamente promíscuos, como é o caso de IncX4, que carrega o gene de resistência *mcr-1*, e que de maneira similar ocorre com vários patógenos. Sabe-se também que barreiras

territoriais ou epidemiológicas nem sempre são suficientes para conter a migração dos vetores que os transportam, a exemplo das aves migratórias de longas distâncias, que conectam comunidades de parasitas haemosporidianos aviários que são responsáveis, por exemplo, pela propagação de *Yersinia pestis* (que permanece ativo em todos os continentes), da Febre do Oeste do Nilo (que embora originária da África se proliferou rapidamente na América do Norte) e das novas linhagens do vírus influenza que se propagam todos os anos pelo planeta. (Santos, 2018; Toledo, 2013; Ribeiro *et al.*, 2010; Barros, 2012; Pesquisa Fapesp, 2002; Moon, 2017; Ricklefs *et al.*, 2017; Fachin, 2016; Cerdeira *et al.*, 2016; Cerdeira *et al.*, 2017; Moura *et al.*, 2017; Turano *et al.*, 2016; Nascimento *et al.*, 2017; Weinberger e Gilmore, 2012; Freire, 2017; Conceição-Neto *et al.*, 2017; Fernandes *et al.*, 2016; ONU Meio Ambiente, 2017; UN Environment, 2017b). O que não se sabe é como conter esse fluxo gênico em caso de ameaça de epidemias e pandemias.

6º O material genético contido nas células de eucariontes não se resume apenas ao DNA nuclear, existe material genético nas mitocôndrias, no RNA e no microRNA, além de outros elementos móveis circulantes. (Ferreira, 2016; Cont, Del, 2008; Costa e Pacheco, 2012; Cruz, 2011; D'Oliveira, 2014; Fantappie, 2013; Langelier, 2018; Lee, Feinbaum e Ambrost, 1993; Nasseh *et al.*, 2001; Ricarte Filho e Kimura, 2006; Salman, 2007; Souza, 2005; Vogel e Motulsky, 2000). O que não se sabe é se e como, em determinadas circunstâncias, na dinâmica de edições *in vivo*, CRISPR pode interagir com esse material genético e que efeitos poderá produzir. Podemos dizer que o equivalente é válido para procariontes.

7º Várias pesquisas indicam que daquelas 8,7 milhões de espécies que se estima existirem em nosso planeta, apenas 1,2 milhões estão classificadas. (Mora *et al.*, 2011). Destas, apenas algumas dezenas, talvez centenas tiveram o seu genoma sequenciado, o que é quase nada diante da imensa e fantástica diversidade de vida em nossa incrível biosfera. De maneira similar podemos dizer dos microbiomas e das suas relações simbióticas, a exemplo do organismo humano e da cana de açúcar. (Cho e Blaser, 2012; Sender, Fuchs e Milo, 2016; Souza *et al.*, 2016). Disto decorre que pouco se sabe sobre que interações e impactos podem ser produzidos no nível dos organismos individuais da maioria absoluta das espécies, das populações e no nível dos ecossistemas. O que significa dizer que é muito difícil, para não dizer impossível, estimar com segurança o impacto de CRISPR-Cas sobre os seres vivos e o meio ambiente, simplesmente porque não os conhecemos. Da mesma forma,



parece evidente a impossibilidade de se prever as consequências, os impactos que uma edição gênica fora do alvo, ou a incorporação de tais modificações por fluxo gênico ou por transferência ou incorporação, possam ter para a sobrevivência das espécies e o equilíbrio dos ecossistemas.

8º Acrescente-se ao dito acima o fato de que pequenas modificações em um único gene podem ser determinantes para a sobrevivência de algumas espécies, a exemplo do gene *GREB1*, relacionado a migração reprodutiva do salmão e da truta. (Hess *et al.*, 2016; Thompson *et al.*, 2018). Mesmo uma simples mudança na coloração de uma espécie, como o caso da *Drosophila melanogaster* com *gene drive* (Gantz e Bier, 2015), pode ser determinante para a sobrevivência da espécie se a cor estiver associada à camuflagem de proteção contra predadores naturais.

9º Apesar do mapeamento do genoma humano, da sequência de nucleotídeos, bem como de algumas dezenas ou centenas de outras espécies, a ciência não sabe como ele funciona. Ao mesmo tempo, estudos indicam que o genoma pode não ser o único elemento que participa da formação de uma vida e que a expressão gênica pode ser influenciada por outros fatores como a epigenética, que aliás, também não é suficientemente compreendida. (Maxmen, 2018; Abbott, 2010; Bernstein *et al.*, 2010; Bonduriansky e Day, 2009; Bradbury, 2003; Corrêa, 2002; ENCODE Project Consortium, 2012; Epigenome NoE, 2004; Ezkurdia *et al.*, 2014; Genetic Science Learning Center, 2013; Griffiths *et al.*, 2002; Hebmüller, 2016; ICGC, 2011; IHEC, 2010; Jablonka e Lamb, 1989; Leite, 2006; Roadmap Epigenomics Project, 2007).

10º Ao mesmo tempo, é aceito correntemente que a maior parte das características fenotípicas e das doenças são resultado de interações poligênicas e multifatoriais, das quais o conhecimento atual é ainda muito reduzido. (Martins, 2016; Nasseh *et al.*, 2001; Reardon, 2015; Souza, 2005; Zatz, 2012). Deste modo, para certos tipos de edição gênica, em especial as inserções de material alienígena, as deleções e *knockout* gênico, há razoável dificuldades para se saber se e como estas mudanças em locus alvo podem influenciar outras regiões do genoma que não são alvo de edição, bem como que efeitos imprevisíveis podem produzir ao longo de décadas ou gerações. Isso sem falar das edições *off-target*, para as quais esta dificuldade se amplia a um patamar incomensurável.

11º Vários estudos dão conta de que, no caso do genoma humano, apesar do sequenciamento completo, em torno de apenas 3% dele (ou 7%, 10% como preferem

alguns) é conhecido ou de alguma forma descrito, o restante é ainda uma incógnita (Ezkurdia *et al.*, 2014; Hebmüller, 2016; Maxmen, 2018; Rutgers, 2002), de modo que edições fora do alvo nessas regiões configuram um nível duplo de incerteza: a incerteza da clivagem errada propriamente dita e a de não se ter conhecimento sobre se e que função ou expressão a região atingida poderá afetar no contexto genômico mais amplo e na expressão do fenótipo. (Kosicki, Tomberg e Bradley, 2018). A pesquisa que relacionou o desenvolvimento do cérebro de macacos com essa região pouco conhecida, que já foi chamada por alguns de “lixo genético” é um exemplo, no mínimo interessante desse tipo de incerteza. (Dickel *et al.*, 2018; Maxmen, 2018).

12º As pesquisas indicam que a edição com CRISPR tem uma taxa de eficiência e precisão acima das outras técnicas, no entanto a taxa de clivagem fora do alvo ainda é em geral muito alta, além de grandes deleções e rearranjos genômicos complexos. (Gaj *et al.*, 2013; Baltimore, Baylis, *et al.*, 2015; Lanphier *et al.*, 2015; Ormond *et al.*, 2017; Kosicki, Tomberg e Bradley, 2018; Maeder e Gersbach, 2016; Liang *et al.*, 2015a; Zhang *et al.*, 2015).

13º Além disso, há indícios de que os ensaios de PCR de curto alcance que comumente são utilizados para verificação da eficiência do processo de edição não conseguem detectar danos genéticos em contextos clínicos de edição de bilhões de células. Outro aspecto que se aponta é que as ferramentas computacionais podem não estar adequadamente moduladas para identificar tais eventos - que incluem deleções extensas de muitos kilobases, lesões em regiões distantes do ponto de clivagem e eventos cruzados - no contexto mais amplo do genoma, o que pode ampliar de maneira substancial o problema. (Kosicki, Tomberg e Bradley, 2018; Maeder e Gersbach, 2016).

14º Ao menos em tese, sob certas condições, a ferramenta molecular CRISPR poderia clivar indefinidamente o DNA alvo, de modo que controlar o processo, sobretudo para edição *in vivo* é um desafio ainda não totalmente superado. (Maeder e Gersbach, 2016).

15º Sabe-se que CRISPR-Cas não é seletivo do ponto de vista do tecido ou órgão a ser editado, de modo que na edição *in vivo*, conter a clivagem tecido-específico também é um desafio ainda por superar. (Maeder e Gersbach, 2016).

16º As doenças de origem mitocondrial ou a elas relacionadas, são um exemplo intrigante dos desafios enfrentados para o uso com sucesso de ferramentas de edição gênica para fins terapêuticos, vez que reúne ao menos três grupos distintos

de dificuldades: de um lado há uma grande variabilidade de mutações causadoras de uma variabilidade de doenças ainda maiores, envolvendo mecanismos genéticos, moleculares, metabólicos e epigenéticos de grande complexidade dinâmica, cujos limiares de saúde-doença são muito variáveis em razão do tecido afetado, do organismo e das circunstâncias clínicas do paciente; de outro lado, apesar dos enormes avanços das pesquisas, o caminho percorrido até o momento ainda é muito insuficiente sequer para o diagnóstico das doenças mitocondriais, quanto mais para o desenvolvimento de terapias, sejam elas paliativas ou curativas; e por fim, os problemas relacionados a técnica CRISPR ainda não superados, em especial os cortes *off-target*, o mosaicismos e as deleções de grandes regiões genômicas compõem um amplificador de dificuldades para que se possa discernir entre riscos e benefícios, vez que a insuficiência do conhecimento e a imprevisibilidade dos resultados não permite saber qual deles é pior, a doença ou a cura, já que ambas podem levar a um mesmo resultado. Evidentemente que o surgimento da técnica BE (editores de base, uma variação de CRISPR) pode representar um caminho de solução para alguns dos problemas da técnica, no entanto, os estudos estão ainda em fase muito inicial e dependem de mais pesquisas para que se possa avaliar com maior precisão o seu nível de segurança e eficiente.

17º Afora a transfecção, em geral o pacote CRISPR é levado às células que serão editadas por um vetor - comumente um plasmídeo, vírus ou bactéria, originalmente de Classe de Risco 1 ou 2, na sua versão selvagem -, geralmente um patógeno conhecido cujas características de patogenicidade é retirada ou silenciada, mas mantida a virulência para que ele possa ser capaz de atingir a célula alvo e entregar o pacote de edição. Uma possibilidade que não está clara é se e como eventualmente o vetor poderá sofrer mutações evolutivas que combinem as características do pacote com outras que o vetor já tinha anteriormente ou novas que ele possa desenvolver por mutação ou receber de outros microrganismos ou elementos móveis por transferência horizontal, resultando na aquisição de capacidades deletérias desconhecidas ou imprevisíveis que o transformem em um patógeno de Classe de Risco 3 ou 4. O caminho inverso, no sentido da doação de seu material genético para outros organismos do microbioma, transferindo com isso características CRISPR para um organismo selvagem também é uma hipótese que convém não seja descartada, dada a imprevisibilidade das consequências. (Heitman, Sawyer e Collins, 2016).

18° Na mesma linha de raciocínio acima, em geral, duas espécies diferentes não trocam material genético. No entanto, além das questões relativas ao fluxo gênico, (Capalbo, 2006), não está suficientemente esclarecido como eventualmente acontece a incorporação de material genético alienígena em espécies tão diferentes como vírus e mamíferos, a exemplo do caso do experimento de Hacein-Bey-Abina *et al.* (2003), ainda dependente de estudos complementares, em que material genético do vetor, um retrovírus, foi integrado em um sítio de integração proviral por mutagênese insercional em um paciente em teste clínico, ocasionando neste leucemia linfoblástica aguda.

19° As pesquisas com CRISPR indicam que nem todas as células alvo são editadas e que também não o são exatamente da mesma maneira, resultando em mosaicismos, que é quando as células de um organismo têm DNA nuclear diferente, perdendo-se assim a uniformidade genética. O que não se sabe é como prever que efeitos o mosaicismo pode produzir e qual o limiar aceitável de expressão em tecido-específico e no organismo como um todo. (Baltimore, Baylis, *et al.*, 2015; Friedmann *et al.*, 2015; Gantz e Bier, 2015; Lanphier *et al.*, 2015; Martins, 2016; Regalado, 2015).

20° Apesar do entendimento corrente de que a hereditariedade está contida apenas no DNA nuclear das células germinativas, há indícios de que características fenotípicas podem ser transmitidas para gerações sucessivas por outros mecanismos como a epigenética, isto por si só subverte o argumento de que edição em linhagem somática não impactaria na hereditariedade. (Bird, 2007; Bonduriansky e Day, 2009; Bradbury, 2003; Fantappie, 2013; Fraga *et al.*, 2005; Genetic Science Learning Center, 2013; Greer *et al.*, 2011; Jablonka, 2011; Jablonka e Lamb, 1989; Johannes *et al.*, 2009; Regalado, 2015; Weaver *et al.*, 2004; Youngson e Whitelaw, 2008).

21° Pesquisas recentes demonstraram que é possível impor uma alteração gênica para uma população inteira por meio de um impulso genético, um *gene drive* criado com CRISPR, que subverte a herança mendeliana. (Gantz *et al.*, 2015; Hammond *et al.*, 2016). Um *gene drive*, uma “bala de prata”, pode ser projetado para eliminar uma população inteira, seja ela um inseto transmissor de um patógeno como a malária, a dengue ou o vírus zika, uma praga para a agricultura ou uma espécie alienígena invasora de um ecossistema. (Heitman, Sawyer e Collins, 2016; Ledford, 2015a; Webber, Raghu e Edwards, 2015). Embora existam instrumentos para estudos de impacto ambiental decorrente da interferência humana através de ferramentas de edição gênica, pesquisas apontam que os mesmos podem não ser suficientes e

adequados no caso do uso de um *gene drive* em uma população específica. (Heitman, Sawyer e Collins, 2016). Ademais, visto que desconhecemos a maior parte das espécies que compõe os microbiomas e macrobiomas, parece adequado considerar a impossibilidade de se saber como elas serão afetadas, inclusive na hipótese de ocorrência de transferência de material genético, seja por fluxo gênico, transferências horizontais ou outros mecanismos. (Freire, 2016; Mora *et al.*, 2011; Sender, Fuchs e Milo, 2016; Souza *et al.*, 2016).

22º Embora exista um padrão internacional recomendado de normas de biossegurança e bioproteção para manuseio de agentes biológicos que representam riscos à saúde humana, de outros animais e para o meio ambiente, cada país segue padrões próprios em conformidade com suas realidades e legislações locais, gerando uma diversidade de tratamentos diferentes para riscos que são comuns. Dado que os perigos e riscos envolvidos no uso experimental da técnica CRISPR são os mesmos em qualquer país e compartilhados por toda a biosfera, parece razoável refletir ao menos três questões: 1º se os atuais requisitos internacionais de biossegurança e bioproteção são compatíveis com os riscos biológicos reais envolvidos no uso da técnica; 2º se as pesquisas com CRISPR em cada país observam tais normas e se estão sendo realizadas em laboratórios compatíveis com o nível de risco biológico envolvido, incluído nestes a possibilidade de os vetores utilizados ou organismos editados evoluírem para Classe de Risco superior, em especial para classes 3 e 4, e 3º dado que os riscos envolvidos são compartilhados por toda a biosfera, é necessário buscar um consenso entre os países para a adoção de normas de biossegurança e bioproteção que sejam igualmente compartilhadas e adotadas por todos os países. O consenso na comunidade científica é que os regulamentos internacionais não são adequados para a gestão das pesquisas com CRISPR, o que por si só, de partida já responde as três questões. (Doudna, 2015a; Charpentier, 2015; Ledford, 2015<sup>a</sup>; Heitman, Sawyer e Collins, 2016; Kuiken, 2016; Capalbo, 2006; Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, 2010; Ministério da Saúde, 2010; Ministério da Defesa - Brasil, 2013; Brasil, 2006; UNODA - ONU, 2018; Lacadena, 2017; FIOCRUZ, 2017; CTNBio - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança, 2006).

23º Sabe-se que muitos pesquisadores institucionalizados e não institucionalizados estão utilizando CRISPR para estudos nas mais diversas áreas da pesquisa básica e aplicada, inclusive em experimentos informais, o que não se sabe é quem são, quais os projetos de pesquisa, quais os objetivos e propósitos, quais

vetores estão sendo utilizados, se os locais onde estão sendo realizadas estas pesquisas tem estrutura e procedimentos de biossegurança e em qual nível, se a equipe de trabalho tem conhecimento e preparo para lidar com tais experimentos, se vetores e organismos editados estão sendo corretamente eliminados ou se estão sendo dispersos inadequadamente nas redes de esgoto e no meio ambiente, etc., enfim, o que se sabe? Quase nada. (Doudna, 2015a; Charpentier, 2015; Ledford, 2015<sup>a</sup>; Heitman, Sawyer e Collins, 2016; Kuiken, 2016; Capalbo, 2006; Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, 2010; Ministério da Saúde, 2010; Ministério da Defesa - Brasil, 2013; Brasil, 2006; UNODA - ONU, 2018; Lacadena, 2017; FIOCRUZ, 2017; CTNBio - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança, 2006; Addgene, 2018).

24° Conforme relatório de especialistas, organismos globais como a OMS e a ONU, não estão preparados para o enfrentamento de epidemias e pandemias como por exemplo o ebola. (ONU - Brasil, 2014; ONU - Brasil, 2015a; ONU - Brasil, 2015b; ONU - Brasil, 2015c; ONU - Brasil, 2016j; ONU - Brasil, 2016h; ONU - Brasil, 2016i; Panel of outside independent experts - OMS, 2015; OMS, 2015). Do que decorre que nossa sociedade global não sabe como reagir para conter ameaças biológicas naturais ou resultantes de edição gênica e proteger a humanidade, e menos ainda as demais espécies, para as quais pouco ou quase nenhum valor ético se lhes atribui.

25° A ONU tem mobilizado o seu sistema para um grande esforço no sentido de se preparar para lidar com patógenos de Classe de Risco 4, incluindo um eventual patógeno X que pode ser resultado, por exemplo, de CRISPR. No entanto, não parece haver um horizonte temporal que permita saber se e quando a Organização e os países estarão aptos a responderem prontamente a eventos de epidemias e pandemias envolvendo estes patógenos. De outra forma, parece incerto que haja essa determinação por parte dos governos, e mesmo que ela exista em alguns deles, o cenário para uma resposta a esse tipo de ameaça, em curto espaço de tempo, em escala global é temerário e incerto. (IBC - UNESCO, 2015; ONU - UNESCO, 2015a; ONU, 2015a; ONU - Brasil, 2015b; ONU - Brasil, 2015c; Panel of outside independent experts - OMS, 2015; OMS, 2015; ONU - Brasil, 2016j; OPAS - OMS, 2018).

26° O alerta de Leite (2006) ao analisar o pós-PGH acerca da nova biologia modelo Big Science, na qual invariavelmente CRISPR se insere, explicitado pelo DOE [Departamento de Energia dos EUA] a pretexto da segurança nacional dos Estados Unidos, não deve ser considerado de menor importância do ponto de vista da

formação de blocos hegemônicos de domínio da técnica, domínio este que se evidencia por outros elementos como as disputas por patentes protagonizadas por instituições norte-americanas, o forte volume de investimentos de algumas empresas ligadas ao setor de biotecnologia em pesquisas com CRISPR e a grande concentração de pesquisas naquele país e em outros poucos do continente europeu e China. Em contraponto, convém garantir que os movimentos em prol de uma regulamentação internacional para as pesquisas com esta nova ferramenta molecular não conduzam a um estrangulamento de iniciativas, sobretudo em países fora desse círculo, sob pena de, a exemplo de outros setores de tecnologia, reproduzir um processo de controle hegemônico do saber que se traduz no mundo real em exercício de poder, de exploração econômica e de reprodução de desigualdades regionais. Um olhar mais atento sobre o quadro atual das pesquisas com CRISPR, e que pode ser válido para a biotecnologia no campo da genética em geral, sugere não apenas uma disputa pelo domínio da técnica, mas em última análise, talvez pelo domínio do futuro.

27º Acrescente-se ao apontado no parágrafo anterior, que os dados de pedidos de propriedade intelectual, as patentes, sobre produtos resultantes da tecnologia CRISPR que tratamos algumas páginas atrás, apesar de ser apenas um recorte temporal e incompleto, evidencia uma ausência incomoda: praticamente inexistem pedidos de PI de origem pública que possam garantir que ao menos alguns benefícios da técnica de alguma forma consigam chegar a todos que deles necessitam. A persistir e se confirmar esta lógica, ela sinaliza a manutenção de um quadro inaceitável e persistente em que os benefícios da técnica estarão disponíveis apenas para uma parcela da população, em geral aqueles que puderem pagar por ele, ao passo que os riscos serão compartilhados por todos, mas não de maneira igualitária, já que em regra os mais vulneráveis são os que se tornam mais expostos aos riscos e que menos condições dispõem de se proteger deles.

28º Há um consenso entre os especialistas acerca do potencial surpreendente de CRISPR para a cura de muitas doenças e para o melhoramento de espécies de interesse, mas como outras tecnologias, tem uma natureza que se presta à ambiguidade humana. A história da humanidade é um exemplo inequívoco de sua capacidade de dispor do bem e do mal com a mesma naturalidade com que ama e odeia a própria espécie. A mesma energia atômica que produz o diagnóstico e tratamento do câncer, produz a bomba atômica; o mesmo raio laser que produz o corte cirúrgico mais preciso e limpo e que conecta todos os seres humanos numa

única comunidade global, produz a luz da morte que pode, do espaço, eliminar vidas na terra; a mesma pólvora que produz o encantamento das grandes festividades humanas, produz as armas que matam milhares de seres humanos todos os dias, o mesmo conhecimento que produz a cura, produz armas biológicas de extermínio em massa. O que não sabemos é para onde a falta de sabedoria humana levará CRISPR.

29º Com efeito, é perceptível a incidência de muitos artigos e matérias de opinião, publicados por pesquisadores ligados principalmente às ciências da vida (predominantemente oriundos da genética, edição gênica e medicina), em que temas como edição gênica, em especial com CRISPR-Cas9, em linhagem somática e germinativa são discutidos e um número substancial deles leva em conta aspectos éticos envolvidos. O problema é que em geral, quando se olha a discussão, constata-se que salvo raras exceções, a maioria se restringe a focar os aspectos técnicos, no restrito limite de sua área de conhecimento, e embora todos tragam uma vasta fundamentação técnica especializada para o debate, poucos são os que recorrem a outras áreas do vasto conhecimento das ciências, mormente no campo da ética ou mais especificamente da bioética, e menos ainda os que chegam a referenciar qual bioética sustenta suas conclusões. Esse abismo de que fala Potter entre as ciências e as humanidades, essa alta especialização e excesso de conhecimento pulverizado desconectados de um contexto mais amplo das ciências são uma presença não apenas incomoda e inconveniente no debate sobre CRISPR, mas também perigosa e que precisa ser superada.

30º Para algumas pessoas talvez possa não parecer importante a discussão que pergunta sobre qual ética serve para discutir edição gênica, ou qual ética serve para discutir o futuro, no entanto, nunca é demais lembrar que havia uma ética na democracia grega que excluía os estrangeiros, os escravos, as mulheres e as crianças; havia uma ética nas Cruzadas Santas da idade medieval; havia uma ética nos regimes escravistas; havia uma ética na eugenia do século passado; havia uma ética no nacionalismo alemão que levou ao holocausto; havia uma ética no Projeto Manhattan que levou a Hiroshima e Nagasaki; havia uma ética no Apartheid; havia uma ética no atentado de 11 de julho contra os EUA, assim como na prisão de Guantánamo ... ou não havia? Enfim, talvez possamos não concordar na pergunta, mas talvez convém concordarmos na resposta.

31º O atual estágio civilizatório da sociedade humana, em que a exclusão social da maioria absoluta da sociedade antagoniza com a mais profunda concentração da



riqueza nas mãos de uma parcela ínfima da população; onde milhões de pessoas são expulsas de seus territórios, fugindo de guerras sucessivas e outros conflitos armados, obrigadas a vagar diariamente sem rumo em um mundo de fronteiras fechadas; onde o acesso aos bens e produtos da ciência moderna e da tecnologia é restrito apenas a uma pequena parcela da sociedade que pode comprar saúde, conhecimento, segurança e bem estar; onde a banalização do preconceito, do ódio de classe, de gênero, de credo e de raça transformam em lugar comum violências de toda sorte, tornando ainda mais invisíveis os mais vulneráveis e os transformando em culpados da própria violência sofrida; onde o discurso sobre direitos humanos, quanto mais se aproxima do Direito, mais se afasta da justiça; nesse mundo, nessa sociedade, com essa perspectiva ética é que as incertezas, riscos e oportunidades trazidas pelas ciências, em especial no caso da técnica CRISPR-Cas9 precisam ser discutidas, de modo a se buscar entender se essa sociedade, inserida nessa realidade, no atual estágio civilizatório, será capaz de fazer escolhas eticamente aceitáveis para as gerações futuras.

Com efeito, há uma distinção que se evidencia com muita frequência em boa parte das discussões que tratam de edição gênica, inclusive de CRISPR, entre técnica e ética. A este respeito devemos fazer mais algumas considerações a partir do que já dissemos sobretudo no item 2.4. Sob o ponto de vista que estamos tratando, baseado no princípio responsabilidade e na crítica à *techne* de Hans Jonas, da necessidade de uma visão mais ampla do mundo e do fazer ciência a partir da ponte entre esta e as humanidades proposta por Potter, bem como da crítica que ambos fazem ao progresso, premissas estas com as quais concordamos plenamente, esta separação entre ética e técnica nos parece absolutamente incompatível e equivocada. Tal pretensão, expressa em posicionamentos como o do The Hinxton Group (2015), sugere que aquela visão de progresso científico materialista de que fala Potter, de que todo o conhecimento é bom e levará a um bem maior, mesmo que seja uma pequena parte não compreensível no momento de sua formulação e de que quanto mais conhecimento melhor, vez que o progresso seria parte da natureza humana, uma expressão singular da sua evolução, persiste ainda, ao que parece, com muita força. Este equívoco torna possível, por exemplo, a separação entre os problemas da técnica CRISPR, ou mais amplamente da edição de genes, e com isso dos riscos que dele decorrem, da análise ética. Da mesma forma, as várias lacunas do conhecimento nesta área, algumas delas também tratadas nos capítulos anteriores e nos apêndices,

agravadas pela sua fragmentação cada vez maior, leva a que as pesquisas operem num vácuo de conhecimento que não raras vezes, também não é considerado como um problema ético, mas tão somente uma contingência do progresso da ciência que supostamente, inevitavelmente, o tempo e mais progresso permitiriam superar. Nesta visão, as lacunas e incompletudes do conhecimento, sejam elas nos fundamentos da biologia ou nas que servem de base para a genética (como os que vimos quando tratamos de evolução, epigenética, herança mitocondrial, etc.), não são considerados como problemas éticos para a pesquisa gênica, mas apenas problemas técnicos decorrentes da incompletude do conhecimento, a serem preenchidas progressivamente com mais pesquisas.

Estas duas posturas, a que separa a técnica da ética e a que sustenta que a ausência de conhecimento não é um problema ético de partida, ou muito ao contrário, que a busca por mais conhecimento que possa preencher este vácuo é uma necessidade ética, nos parecem uma maneira equivocada e perigosa de tratar da questão.

A ética que necessitamos e sustentamos, e que não é suportada pelas éticas tradicionais - como as baseadas nos resultados ou nas intenções, mesmo porque antecede as primeiras e se contrapõe às segundas -, é a ética da responsabilidade, responsabilidade esta sobre o agir humano como princípio. Neste sentido, o fazer ciência, o ato de pesquisar, independentemente dos resultados, pertence ao domínio do agir e por isso deve estar submetida à ética por princípio e por dever. Do que decorre que este agir da ciência sobre as incertezas precisa e deve ser submetido ao crivo da ética, dado que a responsabilidade daquele que age na ausência de todo o conhecimento que este agir reclama, deve ter responsabilidade não apenas pelos problemas técnicos que decorrem desta ausência, mas pelos produtos e resultados que dele decorram. Isto não quer dizer que os resultados, os produtos, visto serem consequências do agir, e portanto distintos deste, possam de alguma forma não estar abarcados no domínio da ética, mesmo porque equivaleria dizer que a bomba atômica em si, a eugenia genética ou o *gene drive* não seriam um problema ético, o que em verdade seria um absurdo, dos mais graves e inaceitáveis. Ocorre que antes destes produtos, está o agir da ciência, que através da pesquisa conduz a eles e é justamente este agir que deve estar submetido por antecendência e prioridade de princípio à ética, de modo a que esta impeça que o agir da ciência possa produzir conhecimentos e produtos que possam impactar terrivelmente sobre o futuro.

Disto decorre que todos os problemas que envolvem a edição de genes, incluindo-se os que são próprios da técnica CRISPR que abordamos nos capítulos anteriores e nos apêndices de A a E, alguns destes aparentemente excessivamente técnicos e que inadvertidamente possam ser considerados fora do contexto ético, bem como a incompletude do conhecimento apontada nas várias áreas da ciência, são fundamentalmente problemas éticos porque estão afetos ao agir, ao fazer ciência sob a égide das incertezas acerca dos resultados e dos impactos destes no futuro.

Evidentemente que convém estabelecer uma diferença, uma distinção, ainda que possa não ser absoluta, entre pesquisa básica e pesquisa aplicada, e também prevenir um outro equívoco: em geral, a pesquisa básica não tem como objetivo, como propósito, um produto tecnológico (e aqui reside o equívoco de presumir que porque a pesquisa básica não resulta em produtos, não deve estar submetida ao crivo da ética, já que *per si* não é capaz de impactar no mundo), mas antes disso, aprofundar, ampliar o conhecimento que irá fornecer a base sobre a qual a pesquisa aplicada poderá, esta sim, consolidar a técnica que resultará em produtos. Neste sentido, a pesquisa básica revela uma natureza do agir cujas consequências, à mais das vezes, somente poderão ser percebidas, a partir do desenvolvimento da pesquisa aplicada. Esta é uma dificuldade corrente que se expressa por exemplo, no conhecimento do átomo, que levou Einstein à equação que se materializou no produto tecnológico da bomba atômica. Esta distância entre o conhecimento que se estabelece na pesquisa básica e que dará suporte à pesquisa aplicada, que por sua vez poderá resultar em produtos que impactarão positiva ou negativamente de maneiras distintas, em escalas e proporções cumulativas variadas, tanto na sociedade humana, como no meio ambiente e no futuro, se constitui numa incógnita particularmente difícil de se estimar. Justamente neste campo das incertezas, tanto das incertezas decorrentes do conhecimento que ainda não se tem e sobre o qual o agir, o fazer ciência assume para si os riscos do caminhar sobre o desconhecido, como do que se poderá fazer com o conhecimento que poderá ser desenvolvido, é que o saber previdente encontra dificuldades para vislumbrar o futuro e quanto mais e maiores forem as incertezas, dele mais deverá ser exigido. É justamente neste campo que o temor de que fala Jonas assume importância capital e deve servir de bússola moral para o agir previdente da pesquisa básica.

Nesse sentido, CRISPR deve ser vista tanto sob a perspectiva da ferramenta molecular que serve à pesquisa básica, como da que serve à pesquisa aplicada, e

para cada uma delas, a natureza do agir da ciência evoca para si responsabilidades distintas e tão maiores quanto maiores forem as suas potencialidade e consequências, ou seja, o seu poder.

Apenas para dar alguma materialidade a esta discussão, vejamos o caso do uso de CRISPR na pesquisa básica para o conhecimento do funcionamento do genoma humano (lacuna que o PGH não conseguiu responder), que, aliás, é o propósito de algumas pesquisas atuais. Este conhecimento em si só não produzirá produtos que possam interferir na linha germinal da espécie humana. No entanto, a partir deste conhecimento, pesquisas aplicadas poderão gerar produtos tecnológicos para edição de genes que, estes sim poderão ser usados para formar uma sociedade eugenicamente excludente ou segregadora ou para produzir uma arma biológica letal. Neste sentido, a pesquisa básica consolida os caminhos e as portas pelas quais passam os produtos da pesquisa aplicada e por isso tem o dever de prever onde cada caminho leva e quais portas podem ou devem ser abertas. Este é, sem dúvida, o “Prometeu desacorrentado” de que fala Jonas.

### **3.1.1 Edição em linhagem somática x linhagem germinativa**

Muitos se opõem à modificação da linha germinativa com base no fato de que permitir intervenções terapêuticas, mesmo sem ambiguidade, poderia dar início a um caminho para o aprimoramento genético não terapêutico. Nós compartilhamos essas preocupações. (Lanphier *et al.*, 2015, tradução nossa).

Afora todas as questões em favor e contra a edição de genes, sem dúvida duas delas são capitais: a edição em linhagem germinativa e o melhoramento genético. Vamos tratar aqui da primeira e logo a seguir da segunda.

Como vimos, há uma visão quase hegemônica no meio científico de que há uma divisão estanque, clara e intransponível entre a linhagem somática e a germinativa: “Quando são feitas alterações genômicas em células não reprodutivas totalmente desenvolvidas, elas afetam apenas o organismo ou a pessoa tratada e não se tornam hereditárias”. (Doudna, 2015b, tradução nossa). Além disso, predomina a ideia de que a edição em linha germinal humana, para fins reprodutivos, não deve ser feita nesse momento e até que os problemas técnicos de CRISPR, principalmente as edições off-target e o mosaicismo, sejam superadas. Por outro lado, várias manifestações vêm no sentido da conveniência e oportunidade da não suspensão das pesquisas em linha germinal com embriões humanos não viáveis ou que não resultem

em uma nova vida, sob a justificativa de que o conhecimento decorrente destes estudos é necessário e será importante no momento em que os problemas da técnica sejam superados. Neste sentido se manifestou por exemplo o *Organizing Committee for the International Summit on Human Gene Editing* (Comitê Organizador do Encontro Internacional sobre Edição de Genes Humanos), em documento intitulado *On Human Gene Editing*:

1. Pesquisa básica e pré-clínica. A investigação intensiva básica e pré-clínica é claramente necessária e deve prosseguir, sujeita a regras legais e éticas apropriadas e à supervisão,

(iii) compreender a biologia de embriões humanos e células germinativas. Se, no processo de pesquisa, os primeiros embriões humanos ou células germinativas passam por edição genética, as células modificadas não devem ser usadas para estabelecer uma gravidez

2. Uso Clínico: Somático. Muitas aplicações clínicas promissoras e valiosas da edição de genes são direcionadas à alteração de sequências genéticas somente em células somáticas, ou seja, células cujos genomas não são transmitidos para a próxima geração.

Seria irresponsável prosseguir com qualquer uso clínico da edição germinal, a menos e até que

(i) as questões relevantes de segurança e eficácia sejam resolvidas, com base na compreensão e equilíbrio adequados dos riscos, potenciais benefícios e alternativas. (Baltimore, Baylis, *et al.*, 2015, tradução nossa)

Destoam desta visão algumas manifestações em contrário e que abordam duas questões distintas: sob a perspectiva da herança mendeliana, considera-se a dificuldade de acompanhamento dos potenciais efeitos negativos ao longo de gerações e, sob a perspectiva da herança epigenética, os efeitos transgeracionais.

Sobre os efeitos transgeracionais da epigenética, Regalado, (2015) assim registra manifestação de Church:

Church diz que o artigo publicado na revista Nature [*Don't edit the human germ line* (Lanphier *et al.*, 2015)<sup>82</sup>] erra ao assumir que a terapia genética usada em adultos, conhecido como terapia genética somática, não terá consequências para as gerações futuras. Ela poderia sim afetá-los, diz ele,

---

<sup>82</sup> A manifestação de Lanphier a que Church se refere é a seguinte: “A chave para toda a discussão e pesquisa futura é fazer uma distinção clara entre edição de genoma em células somáticas e em células germinativas. Uma moratória voluntária na comunidade científica poderia ser uma maneira eficaz de desencorajar a modificação da linha germinativa humana e conscientizar o público sobre a diferença entre essas duas técnicas. Preocupações legítimas em relação à segurança e ao aspecto ético do estudo não devem impedir o progresso significativo que está sendo feito no desenvolvimento clínico de abordagens para potencialmente curar doenças debilitantes graves”. (Lanphier *et al.*, 2015, p. 411, tradução nossa).

através dos chamados efeitos epigenéticos que mudam a forma como os genes são expressos.

Sobre o problema do acompanhamento a longo prazo, a Sociedade Americana de Terapia Genética e Celular (ASGCT) e a Sociedade Japonesa de Terapia Gênica assim se manifestaram:

Nossas Sociedades consideram que essas preocupações éticas e de segurança são suficientemente sérias para sustentar uma postura forte contra a edição genética ou modificação genética de células humanas para gerar zigotos humanos viáveis com modificações germinativas hereditárias. Mesmo com os avanços técnicos que podem eventualmente resolver os problemas de segurança e de mosaicismo, nossas Sociedades concluem que não há formas eticamente aceitáveis de realizar edição de genes embrionários ou outras modificações germinativas, porque os resultados de tais experimentos não são suscetíveis a avaliações de longo prazo em uma escala de tempo razoável. Por estas razões, as nossas Sociedades apoiam uma forte proibição da edição de genes da linha germinativa humana ou de outras modificações genéticas de linha germinal, a menos e até que estes problemas técnicos e éticos possam ser resolvidos, ampla e profundamente discutidos, e um consenso social alcançado. (Friedmann *et al.*, 2015, tradução nossa).

A este debate, talvez um dos mais intensos e frequentes desde Asilomar, convém agregar mais algumas questões que podem modificá-lo substancialmente e indicar outra direção:

1º CRISPR é uma técnica para edição de genes de virtualmente qualquer espécie, não apenas a humana e está de fato sendo aplicada a uma ampla gama de organismos eucariontes e procariontes, de modo que o reducionismo do debate às preocupações e interesses apenas da espécie humana ignoram os possíveis danos que possam ser gerados para as demais espécies e as eventuais consequências ao meio ambiente. Este é um problema do qual não devemos nos afastar, senão pelo valor intrínseco das demais espécies, ao menos porque não é possível sustentar a vida humana nesse nosso pequeno planeta sem um meio ambiente que lhe dê suporte. Neste sentido, se compartilhamos o mesmo meio ambiente, forçosamente compartilharemos o mesmo destino;

2º a separação da hereditariedade em linha germinal e somática tem sentido apenas para aquela parte das espécies procariontes que se reproduzem sexuadamente a partir de gametas, cujas células germinativas se formam durante a embriogênese, não se aplica àquelas que se reproduzem por outros mecanismos, incluindo alguns tipos de plantas e os procariontes;

3º se os estudos que apontam que material genético mitocondrial masculino pode ser transmitido para a descendência estiverem corretos, ao menos em parte a

barreira somática-germinal poderá ser afetada por conta dos processos subjacentes ao amadurecimento das células germinais masculinas, a gametogênese;

4º se de fato a epigenética que estuda evolução, hereditariedade não cromossômica e efeitos transgeracionais estiver correta, a barreira germinal-somática deixa de ser absoluta, do que decorre que modificações em linhagem somática poderão sim afetar a descendência;

5º a superação dos problemas da técnica, independentemente de considerar ou não a distinção entre linhagem somática e germinal, é um passaporte para o controverso melhoramento genético, cujas implicações éticas são de uma dimensão e natureza de tal ordem que iremos tratar em separado.

### **3.1.2 Cura x melhoramento: recolocando o debate.**

De fato, se a vida significa antes de tudo adaptação, ela representa a melhor e a pior das garantias confiáveis de sobrevivência, que os apóstolos da irresistível transformação tecnológica da vida têm a nos oferecer. Nós acreditamos que nos basearmos nessa certeza (uma ideia aceita) é tão irresponsável quanto nos abandonarmos na incerteza [...]. (Jonas, 2006, p. 206).

Correntemente o pragmatismo do debate sobre edição gênica estabeleceu uma segunda divisão estanque: a edição para fins de cura da edição para fins de melhoramento. Nessa linha, aceita-se que toda pesquisa que possa conduzir à cura de doenças, ou antes disso, à sua prevenção, inclusive em linha germinal e que proteja a hereditariedade, é boa e deve prosseguir. As restrições se resumem à necessidade de superação dos problemas de segurança da técnica. Já no caso do melhoramento, pode-se dizer que em geral não há exatamente uma restrição absoluta e sim uma aceitação condicionada a um amplo consenso na sociedade do que possa ou não ser melhorado e desde que não conduza a uma eugenia negativa. Necessário observar que essa perspectiva sobre melhoramento tem levado em conta apenas a espécie humana, o que evidencia uma subtendida aceitação de que não haveria implicações ética no melhoramento de outras espécies. Aliás, muito ao contrário, ampla tem sido a defesa de que o melhoramento das demais espécies, em especial aquelas de interesse econômico são necessárias para o bem da humanidade. Acomodam-se nesse argumento os OGMs e mais recentemente os organismos editados por CRISPR, para os quais se argumenta que a edição de genes é apenas uma forma de “ajudar” a natureza a suplantar os desafios da sobrevivência, de dar um

“empurrãozinho” na evolução das espécies, ou ao menos na nossa, vez que a natureza é muito lenta. Talvez até fosse, se tivéssemos todo o conhecimento sobre a evolução, sobre o frágil equilíbrio do ecossistema; se tivéssemos o conhecimento não apenas do DNA das espécies que serão afetadas e de como ele funciona, mas também sobre como estas espécies se formam e interagem no mundo. No entanto, esse conhecimento ainda não está disponível, o que equivale a dizer que de fato é um “empurrão” na evolução, mas neste caso ela está de olhos vendados e não sabemos se o próximo passo será em direção à planície ou ao abismo. Jonas nos oferece uma perspectiva deveras útil a este respeito:

A evolução trabalha com pequenos detalhes. Nunca arrisca um tudo-ou-nada. Por isso se permite incontáveis “erros” individuais, dos quais seleciona, com seu procedimento paciente e lento, os poucos e igualmente pequenos “acertos”. O grande empreendimento da tecnologia moderna, que não é nem paciente e nem lento, comprime – como um todo e em muitos de seus projetos singulares - os muitos passos minúsculos do desenvolvimento natural em poucos passos colossais, e com isso despreza a vantagem daquela marcha lenta da natureza, cujo tatear é uma segurança para a vida. (Jonas, 2006, p. 77).

Evidentemente que aquela visão que apontamos tem pelo menos três problemas de princípio: o primeiro é que ela parte do resgate da ideia da neutralidade da ciência, de que todo o progresso é bom e conduz ao bem comum e ignora a realidade desigual e excludente do mundo real; o segundo diz respeito ao latente antropocentrismo que lhe é implícito; o terceiro e talvez mais problemático, diz respeito ao propósito último da busca pelo melhoramento.

Sobre o primeiro problema, parece que já falamos bastante quando recuperamos a crítica de Potter (2016) ao progresso e de Jonas (2006) à técnica, bem como quando fizemos uma breve reflexão sobre o mundo atual, de modo que nos é suficiente afirmar que essa visão é uma utopia superada pelo confronto com a realidade e sobre a qual ninguém com razoável discernimento deveria levar em conta. Sobre o viés antropocêntrico dessa visão, tema que tratamos mais amiúde na fundamentação de uma ética para edição de genes, devemos admitir a dificuldade que representa a sua superação, vez que não apenas está historicamente arraigada em nossa cultura, como porque ela faz parte da nossa visão de mundo e temos muita dificuldade de mirar o futuro sem seu apoio, como se admitíssemos que não poderia haver sentido no futuro sem que estejamos nele contido como propósito e finalidade. No entanto, em decorrência de tudo que viemos discutindo desde as teorias da evolução e dos fundamentos da biologia e da genética, é imperioso admitirmos ao



menos três verdades: a primeira é a de que somos apenas mais uma espécie nesse nosso pequeno planeta; a segunda é a de que não temos nenhuma preferência ou prioridade em termos de evolução e estamos sujeitos à extinção como qualquer outra espécie que existiu, e a terceira verdade é que somos a única espécie neste planeta que foi capaz de impor a ele mesmo um nível tal de degradação ambiental e de ameaça de destruição a ponto de poder fazer retroceder milhões de anos de evolução ao nada do qual viemos (para lembrar as palavras de Gabriel García Márquez). Se queremos mesmo sobreviver ao futuro, precisamos reconhecer que o atual estágio de nossa civilização, por mais que nos surpreendamos com ele, por mais maravilhados que nos sintamos pelo que temos sido capazes de fazer e por mais orgulhosos que possamos estar pelos enormes desafios que conseguimos nos impor e superar, todo esse narcisismo baconiano de que fala Jonas (2006) não nos garante a sobrevivência, mesmo porque, não custa lembrar, a seleção natural não faz teste de QI pra escolher quem sobreviverá e quem será extinto. Se não pudermos retornar ao ponto de nossa evolução em que nos percebíamos como parte da natureza, precisamos avançar o conhecimento no sentido da sabedoria proposta por Potter (2016) para usar a tecnologia em favor de um bem comum de toda a biosfera. A tecnologia não é a arca da salvação, e mesmo que fosse, de nada adiantará se não tivermos um planeta para onde ir.

Com efeito, o problema do melhoramento, assim como a tecnologia em geral, contém em si essa ambivalência intrínseca que se revela na ameaça que ele representa à espécie humana em face do seu potencial. (Jonas, 2006). Se por um lado a tecnologia como CRISPR tem o poder de varrer do planeta uma espécie inteira, que até poderia ser a humana, por outro, tem também o poder (que diga-se, é anunciado como a grande vantagem) de transformar a humanidade a pretexto de se alcançar a perfeição e a imortalidade, talvez guiada por incontáveis e sucessivos melhoramentos em que, ao final, se vença a sobrevivência ao preço de se perder, no processo, a essência de um ser humano autêntico. Ao fim e ao cabo, o resultado prometido é que o homem como o conhecemos, talvez acabe extinto:

Considerando a severidade dos sacrifícios que possam ser necessários, essa questão pode se tornar o aspecto mais precário da ética da sobrevivência que nos está sendo imposta: um desfiladeiro entre dois abismos, no qual os meios podem destruir os fins. Esse caminho tem de ser trilhado à luz da incerteza do nosso conhecimento e em respeito daquilo que o homem fez de si mesmo, ao longo dos milênios de produção cultural. (Jonas, 2006, p. 232).

Jonas levanta outras questões inquietantes sobre o melhoramento genético: um “sonho ambicioso do *homo faber*, condensado na frase de que o homem quer tomar em suas mãos a própria evolução, a fim não meramente de conservar a espécie em sua integridade, mas de melhorá-la e modificá-la segundo seu próprio projeto”. (Jonas, 2006, p. 61). Afora as questões que levantamos sobre evolução, variabilidade e diversidade, que vão mais ao encontro dos argumentos de Potter no sentido de, ou na falta dele, da pretensão da ciência de um código genético perfeito, Jonas questiona não apenas se temos o direito moral de tal pretensão, mas também se somos qualificados para tanto, vez que conduz a ideia de se criar uma “imagem” a partir um modelo, e nos leva a outra questão mais séria: quem será o seu “criador”, baseado em qual saber e a partir de quais modelos? Se admitirmos que o conhecimento atual - e certamente ainda por muito tempo, apesar dos imensos avanços - é ainda imensamente insuficiente não apenas no campo da genética, mas em todos os demais ramos do conhecimento humano, que em síntese, abarcam a plenitude de um ser humano perfeito (ao menos em tese), perguntar quem será o “criador” dessa “imagem”, desse ser “perfeito”, implica necessariamente admitir excludentemente, uma de duas possibilidades: ou o criador é imperfeito e portanto incapaz de criar uma imagem de perfeição, um modelo perfeito, dada a ausência de conhecimento para tanto; ou o criador é perfeito e portanto capaz de criar uma imagem, um modelo perfeito, mas neste caso, não seria um sonho, uma pretensão para uma conquista suprema, seria desde logo a realidade trivial e não haveria nenhum sentido ou motivo persegui-la.

[...] o poder tecnológico nos impele adiante para objetivos de um tipo que no passado pertenciam ao domínio das utopias [...] dito de outra forma, o poder tecnológico transformou aquilo que costumava ser exercícios hipotéticos da razão especulativa em esboços concorrentes para projetos executáveis. (Jonas, 2006, p. 63).

Isso exemplifica o despropósito da pretensão, independentemente de qual seja a perspectiva sobre a qual se olha a questão, mas revela um dos significados do que Potter chama de conhecimento perigoso.

Devemos ainda tratar de um aspecto singularmente fugidivo dessa divisão entre cura e melhoramento: sob certas circunstâncias a cura ou a prevenção (no sentido da cura antecipada pela engenharia do genoma) pode assumir contornos funcionais que em última análise se confundem com melhoramentos funcionais, a um ponto em que

não seja mais possível discernir a diferença entre eles. Talvez fique mais fácil tratarmos da questão com alguns exemplos práticos:

Caso 1 - cura funcional: é sabido que determinados agrotóxicos usados na lavoura são mutagênicos e teratogênicos. Por esta razão, da mesma maneira que a engenharia do genoma pode produzir uma planta imune a estas substâncias (como a soja e o milho), seria razoável que essa mesma ciência introduzisse no trabalhador rural uma solução genética de resistência aos agentes químicos, protegendo-o dos males do ofício. Evidentemente que tal resistência só faria sentido para aqueles que manuseiam tais substâncias, de modo que não haveria razão clínica ou econômica para “imunizar” toda a população. Ao longo de algumas centenas de anos, é possível que tivéssemos um pequeno exército de trabalhadores geneticamente adaptados funcionalmente para tais atividades, e um contingente ainda maior de pessoas que não teriam tais genes de resistência, o que suscita a questão de se saber se os “eleitos” poderiam escolher ser ou fazer outra coisa que não seja lidar com agrotóxicos, já que foram preparados geneticamente para cumprirem um papel social, uma função das mais importantes e indispensáveis e para a qual os demais não o foram: alimentar a fome do mundo.

Caso 2 - melhoramento funcional: controlador de tráfego aéreo, conhecido internacionalmente pelo acrônimo ATCO (Air Traffic Controller) é uma atividade da qual se exige grande capacidade de concentração, apurada acuidade visual e resistência ao stress. Um erro pode ser fatal e contribuir para um desastre aéreo com centenas de vítimas fatais. Por isso selecionar profissionais com tais habilidades é essencial para a segurança de voo. Vamos imaginar que soubéssemos quais são os genes que favorecem um fenótipo com tais características acima da média, poderíamos selecionar geneticamente os melhores e até quem sabe, editar os genes embrionários para gerar os melhores e mais eficientes controladores de voo, protegendo assim a vida de milhões de pessoas que cruzam os ares do mundo todo. Mas e os demais que eventualmente também aspiram por essa profissão? E os escolhidos que por inclinação própria se sintam impulsionados a se realizarem na atividade agrícola, para a qual não foram projetados para terem resistência aos agrotóxicos, e nem tem as aptidões genéticas para competir com os que o foram?

Dito de outra forma, modificações genéticas que possam dar origem a capacidades, habilidades ou curas funcionais ou ocupacionais não são como vacinas, por isso devem ser, quando forem possíveis, implementadas de maneira seletiva, de

acordo com as necessidades e/ou interesses de indivíduos ou grupos sociais. Visto sob certo prisma, pode parecer fazer todo o sentido garantir que cada um tenha o seu espaço, o seu lugar no mundo, um mundo que se pretenda socialmente mais inclusivo. No entanto, ao criar geneticamente, no nível da linhagem germinativa tais habilidades e aptidões, se estará definindo os genótipos e fenótipos que poderão se tornar no futuro divisões de classes sociais, altamente capacitadas para funções e trabalhos específicos, mas que não poderão no mundo real e desigual que vivemos, almejar outros papéis sociais porquanto não foram geneticamente “habilitados” ou “capacitados” para os mesmos.

Com efeito, há uma linha tênue, imprecisa e cediça a dividir cura de melhoramento. Como alertava Engelhardt, não há neutralidade na ciência (Potter, 2018), e podemos dizer, nem nos seus produtos, e não raras vezes, ou talvez até com frequência, a cura ou o melhoramento funcional podem ser uma porta para a exclusão. Uma ponte que pode levar a um determinismo genético planejado e que tem como consequência o cerceamento do livre arbítrio em favor a formação de castas sociais e da segregação, não pela cor, pelo sexo ou pela raça, mas pelo projeto para o qual cada um venha a ser programado para cumprir uma função antes mesmo de existir.

Parece indispensável perceber a fragilidade da divisão que se convencionou estabelecer entre cura e melhoramento genético, vez que este é um caminho sem volta, como alerta Jonas, antes que ele se torne autônomo e “tirânico e que em vez de libertar o homem o escraviza”. (Jonas, 2006, p. 237).

Com efeito, a divisão que se convencionou estabelecer entre cura e melhoramento, está compreendido no debate que se estabeleceu entre eugenia positiva e negativa (Sanchez, 2007), uma divisão importante para se discutir acerca dos riscos e benefícios de CRISPR.

Acrescenta-se a este debate sobre eugenia, outras questões que tem impacto profundo, sobretudo se levarmos em conta a realidade do mundo global que abordamos páginas atrás: as desigualdades sociais e econômicas, as restrições de acesso a bens e produtos como um medicamento simples ou um exame diagnóstico - seja em decorrência da pobreza extrema, de conflitos armados, das disputas geopolíticas e do modelo de desenvolvimento econômico globalizado de concentração da riqueza - são parte de um conjunto amplo de determinantes sociais, econômicas e políticas que possivelmente influenciarão no acesso aos produtos que advenham de

CRISPR e podem conduzir a um aprofundamento ainda maior da desigualdade e exclusão social:

O sistema CRISPR-Cas9 quando associado ao tratamento ou cura de doenças pode desencadear desigualdades sociais relacionadas à acessibilidade da tecnologia. Neste quesito, surgem questionamentos éticos como: Quem terá acesso à terapia? Quanto custará? Os Estados garantirão o acesso gratuito em seus sistemas de saúde ou só terão acesso aqueles com recursos privados para custear? (Simão-Silva *et al.*, 2017, p. 38).

Desta forma, além das questões relativas à eugenia, que tradicionalmente são consideradas quando se trata de edição gênica - relativas ao melhoramento *lato sensu* -, a cura ou melhoramento funcional e as desigualdades sociais são fatores que assumem relevância capital no debate, vez que fazem parte do conjunto de questões pragmáticas que discutem CRISPR no mundo real, para além da bancada do laboratório. Incluir neste debate outras questões que tratamos anteriormente como as relacionadas às disputas de patentes, uma certa ausência de pesquisas em centros de P&D públicos e a fragilidade da regulamentação internacional na área são componentes que podem ajudar a resolver o problema ou a piorá-lo sobremaneira, o que por si só evidencia a relevância do debate.

### **3.1.3 Biossegurança e bioproteção e a regulação internacional**

Antecipar os riscos de novas pesquisas é um componente essencial da ciência responsável. (Heitman, Sawyer e Collins, 2016, tradução nossa).

Falamos do enigma da pesquisa gênica relativa à biossegurança: fazer com que as normas de biossegurança e bioproteção consigam acompanhar o rápido desenvolvimento da ciência e implementá-las para todo o mundo da pesquisa e da economia sob a égide da precaução e da proteção do meio ambiente e das gerações futuras. Cumpre-nos aqui tecer alguns comentários adicionais a este respeito. Alguns argumentam que considerar tantas variáveis como as que levantamos, tantas circunstâncias possíveis e nem sempre estatisticamente prováveis, escalas de tempo e espaço que vão muito além do alcance limitado do tempo-espaço de uma pesquisa não contribuiriam em nada e poderiam servir de obstáculo ao desenvolvimento da ciência. Esta visão lembra a criança que está aprendendo pela primeira vez a brincar de esconde-esconde, ela fecha os olhos e pensa que porque ela não vê o mundo, o mundo não a vê. Colocar um véu, ignorar ou fechar os olhos para os riscos que envolvem a pesquisa, o projeto científico, a bancada do laboratório, os organismos

manipulados, a vida em constante evolução, em sua ampla variabilidade e diversidade não os faz desaparecer. Pode ser útil para conformar nossa consciência a um estado de esperança confortável, pode ser útil para fazer-nos crer de nossa capacidade incontrolável e ilusoriamente ilimitada de submeter a natureza à nossa ambição, pode ser útil para nos colocar, como diz Kesselring (2000), fora do mundo para o dominar sem responsabilidade, mas não tem o poder de fazer os riscos desaparecerem. Talvez seja hora, se é que já não passou, de resistirmos ceder à ignorância perigosa de que fala. (Potter, 2018).

Vimos que não apenas as normas e regulamentos internacionais não estão preparados para lidar com o poder de CRISPR, mas que também nossa sociedade não está preparada para lidar com eventos biológicos de saúde ou ambientais de grandes proporções, sejam eles decorrentes de incidentes, acidentes ou de atos propositais.

Talvez seja adequado reconhecer que em certa medida, a própria ciência não está modulada para considerar todos os riscos envolvidos com as ferramentas de edição gênica, sobretudo com CRISPR. A diferença é que no caso das demais técnicas o acesso era muito restrito, em decorrência a incidência de riscos era menor. A popularidade de CRISPR nos laboratórios fez os riscos se ampliarem exponencialmente como nunca visto antes e se somarem aos que são próprios da técnica, e que não são poucos e nem frívolos:

Os pesquisadores muitas vezes precisam pedir apenas o fragmento de RNA; os outros componentes podem ser comprados na prateleira. Custo total: apenas \$ 30. "Isso efetivamente democratizou a tecnologia para que todos a usassem", diz Haber. "É uma grande revolução".

[...] "Esse poder é tão facilmente acessível pelos laboratórios - você não precisa de um equipamento muito caro e as pessoas não precisam ter muitos anos de treinamento para fazer isso", diz Stanley Qi, biólogo de sistemas da Universidade de Stanford, na Califórnia". Devemos pensar cuidadosamente sobre como vamos usar esse poder". (Ledford, 2015a, tradução nossa)<sup>83</sup>.

Outra questão que merece especial atenção no caso de CRISPR, diz respeito à Classificação de Riscos de agentes biológicos. Embora as normas vigentes tratem

---

<sup>83</sup> Lacadena faz equivalente avaliação de CRISPR: "Com a chegada da técnica CRISPR-Cas9, pode-se dizer que o "gene alvo" foi popularizado ou "democratizado". De fato, enquanto o uso de meganucleases requer 4-5 anos de trabalho e um custo de € 6.000 para realizar uma pesquisa de edição, as nucleases ZF envolvem um custo de € 30.000, o TALEN envolve um tempo de 3-4 meses e um custo de € 10.000, com o CRISPR-Cas9 são necessárias apenas 2-3 semanas de trabalho e um custo de € 20-30". (Lacadena, 2017, p. 3, tradução nossa).

dos organismos exóticos ou invasores, elas parecem não ser suficientemente explícitas no que se refere aos organismos editados, sejam eles os vetores ou os alvos de edição. Ao mesmo tempo, em certos experimentos, o organismo doador é o mesmo que o receptor, no entanto, o resultado será um organismo diferente, uma vez que o material genético resultante não é igual ao do início do experimento. Neste caso, supondo que na origem o organismo não seja um espécime exótico ou invasor, a norma o classificará em Classe de Risco compatível com organismos nativos que não representam riscos de um organismo alienígena. Apesar disto, do que vimos nos capítulos anteriores, o nível de incerteza sobre o resultado do processo de edição, seja em decorrência os eventos imprevistos, dos cortes *off-target*, dos indels, da epigenética, dos efeitos tardios, dos efeitos transgeracionais, das interações poligênicas, dos mecanismos evolutivos próprios do sistema CRISPR-Cas e das transferências horizontais de pacotes inteiros via plasmídeos, da promiscuidade dos mesmos, das imprecisões e inadequações dos instrumentos de mapeamento e busca de efeitos fora do alvo, das limitações do conhecimento, só pra citar alguns, parece incerto e mesmo inseguro afirmar que o organismos resultante de uma edição gênica, ainda que sem haver recebido material genético alienígena, não tenha adquirido novas características que o tornem do ponto de vista do nível de risco, mais perigoso do que era antes. O caso da *Yersinia pestis* é um exemplo interessante de como modificações evolutivas tornam um patógeno de menor importância clínica em um vetor de alta transmissibilidade, virulência e letalidade. Da mesma forma, plasmídeos ditos promíscuos, como o *IncX4*, que disseminou o gene *mcr-1* por todos os continentes faz lembrar de como o mundo é pequeno e como criaturas imensamente pequenas encontram formas de percorrer continentes para trocar e compartilhar material genético que as tornem mais aptas à sobrevivência. Neste sentido, parece razoável supor que tanto o organismo resultante de uma edição, como o vetor utilizado, sejam classificados como organismos exóticos, ao menos nos primeiros momentos e até que estudos possam determinar com segurança que eles não contêm riscos maiores do que quando do início do experimento. Vale lembrar que avaliação de risco é sempre um processo mediado por valores (Heitman, Sawyer e Collins, 2016; Leite, 2006), e deve observar a precaução como um princípio e não como uma recomendação:

O princípio da precaução deve ser respeitado, assegurando que um consenso substancial da comunidade científica sobre a segurança de novas

aplicações tecnológicas seja a premissa para qualquer consideração adicional. (IBC - UNESCO, 2015, p. 28, tradução nossa).

Com efeito, a vida quer viver e a natureza é pródiga em exemplos: a *Pseudomonas aeruginosa* que citamos anteriormente, um procarionte autônomo, de vida livre e nômade, desprovido de qualquer capacidade cognitiva como a concebemos, na busca pela sobrevivência abre mão dessa liberdade para formar colônias e constituir os biofilmes que garantirão à comunidade resistir aos antimicrobianos. Na cultura de vetores para edição gênica, embora se utilize mecanismos para eliminar aqueles que não contenham a ferramenta CRISPR preparada para o processo, não quer dizer que todos os vetores são geneticamente idênticos e reagirão da mesma maneira às ferramentas químicas de contenção e seleção, os antimicrobianos. Se a teoria da evolução estiver certa, as mutações ocorrerão, de modo a viabilizar variedades diferentes do programado, com possibilidades e capacidades de ação e sobrevivência imprevisíveis. A vida quer viver e é capaz de suplantar os maiores desafios para se adaptar, e adaptação parece ser sobretudo criatividade e cooperação evolutiva:

Só para mencionar mais uma das muitas aplicações da biologia evolutiva na agricultura, a resistência a inseticidas se desenvolveu em mais de 500 espécies de insetos e ácaros - muitos deles considerados pragas para os grãos nos últimos 50 anos [...]. (Futuyma, 1992, p. 7).

Outra questão que perpassa todo o debate em curso é se uma nova Asilomar é possível. Por óbvio, certamente que sim. Por outro lado, o resultado prático parece ser uma incógnita tão grande quanto permitiriam as determinantes sociais, políticas e econômicas de que tratamos. O entendimento que se terá acerca de quais são realmente os problemas que decorrem do uso das tecnologias de edição gênica (em especial o sistema CRISPR-Cas, mas não apenas), tanto como processo de P&D, como produto; quais riscos são aceitáveis e valem a pena serem assumidos pela sociedade humana, como enfrentá-los caso ocorram e como garantir o acesso pleno e universalizado dos benefícios dela decorrentes, são algumas das questões talvez mais difíceis que precisam ser enfrentadas, mesmo porque dependerão de quem participará e que interesses estarão sendo representados. Talvez também seja a hora de admitirmos que não temos todo o conhecimento de que necessitamos para compreender todos os riscos envolvidos e nem a sabedoria para o administrar. (Potter, 2018).



## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS OU CONCLUSÃO

Primeiro, esse saber [o saber moderno na forma das ciências naturais] “neutralizou” a natureza sob o aspecto do valor; em seguida foi a vez do homem. Agora trememos na nudez de um niilismo no qual o maior dos poderes se une ao maior dos vazios; a maior das capacidades, ao menor dos saberes sobre para que utilizar tal capacidade. (Jonas, 2006, p. 65).

Quando iniciamos este debate, desejávamos saber se a ferramenta molecular de edição genética CRISPR-Cas9 era uma oportunidade ou uma ameaça: uma oportunidade de resolução para os problemas de saúde, para a cura de doenças adquiridas ou hereditárias e para o aperfeiçoamento das espécies, sobretudo a humana, mas também aquelas de interesse ambiental e econômico, ou se era uma ameaça biológica para as gerações presente e futuras. A pergunta parecia simples, no entanto a resposta, como previsto, se mostrou muito mais complexa e difícil.

Até poucos anos atrás a discussão sobre edição de genes, sobretudo em linha germinal humana, era considerada tema de fronteira da ciência. A partir da descoberta em 2012 de que o sistema imune-adaptativo CRISPR-Cas, de bactérias e archaea, poderia ser manipulado em laboratório para editar genes de praticamente qualquer espécie, com elevado grau de especificidade e eficiência, através de projetos comparativamente muito mais fáceis, rápidos e baratos de executar, a nova ferramenta molecular passa a ser amplamente adotada por pesquisadores no mundo todo, ultrapassa os muros da ciência e alcança inclusive o interesse de grupos não institucionalizados, os chamados *DIY biologists*. Pouco mais de três anos depois, um tempo irrisório para a ciência, testes clínicos já vinham sendo realizados e outros tantos vinham sendo preparados e o mercado deste setor já se referia a CRISPR como a nova “mina de ouro da biotecnologia”. Ao mesmo tempo em que os problemas intrínsecos à técnica, tais como erros de edição, cortes fora do alvo e mosaicismos iam sendo conhecidos com maior nitidez, aplicações em embriões humanos e impulsos genéticos com *gene drives* elevaram o nível de preocupação e temores no meio científico, ao ponto de propostas de moratória serem apresentadas para que especialistas e a sociedade pudessem debater os riscos e implicações éticas envolvidas no uso da tecnologia emergente. Estamos agora neste momento, o do debate.

A busca exploratória que fizemos evidenciou interessantes aspectos que valem a pena ressaltar, alguns dos quais antevíamos desde o início:

1º CRISPR de fato é uma técnica surpreendentemente poderosa, tanto sob o ponto de vista da ferramenta molecular para estudo e edição de genes como pela facilidade de acesso aos materiais e meios para sua aplicação. O amplo espectro de usos, tanto na pesquisa básica como aplicada representam uma grande esperança de avanços substantivos em um prazo de tempo muito reduzido.

2º A técnica realmente se popularizou a um tal ponto, em tal volume e por tantos lugares que é impossível saber quem a está usando, onde, como, para que finalidade e quais os resultados alcançados, sejam eles positivos, inócuos ou perigosos para as pessoas e para meio ambiente.

3º Da mesma forma é impossível saber sobre quais condições de biossegurança e bioproteção tais experimentos estão sendo realizados.

4º O acesso altamente facilitado aos insumos necessários aos experimentos com CRISPR, inclusive via internet, sugerem não haver requisitos, restrições ou controles suficientemente eficientes para um acompanhamento mínimo do fluxo de material genético circulante no mundo por estas vias e que permitam inclusive a rastreabilidade de vetores, o que pode dificultar ações de emergência para contenção e remediação, na eventualidade de ocorrência de eventos de gravidade que possam atingir comunidades ou o meio ambiente.

5º Estudos indicam que não apenas os problemas inerentes à técnica que já vinham sendo apontados (como os cortes off-target e mosaicismos), não só são maiores do que se imaginava, como também incluem outros eventos como grandes deleções de muitos kilobases, lesões em regiões distantes do ponto de clivagem, eventos cruzados, e rearranjos genômicos complexos. Além disso, aponta-se que as ferramentas computacionais e os métodos de investigação destas ocorrências podem não estar suficiente ou adequadamente modulados para os perceber e os registrar.

6º Parece haver uma insuficiência, ou mesmo ausência de protocolos para estudo e acompanhamento de efeitos transgeracionais decorrentes de edições gênicas em geral, inclusive com CRISPR, sobre as espécies de ciclo de vida longevos, em especial a humana, merecendo destaque sobre os aspectos éticos envolvidos.

7º Alguns métodos de aplicação da técnica, como por exemplo a inalação de vetores, e alguns subprodutos como *gene drive* envolvem riscos adicionais de elevado grau para seres humanos e para o meio ambiente em razão do alto potencial de danos, da rápida propagação e difícil reversão.

8º A rápida evolução e expansão das pesquisas de aplicação, inclusive no campo dos ensaios clínicos parece ter avançado muito mais rápido do que a pesquisa básica que deveria lhe dar suporte e segurança, com importantes impactos do ponto de vista dos riscos envolvidos e em desfavor dos benefícios pretendidos.

9º Há dúvidas razoáveis acerca da eficácia da suposta barreira existente entre as linhagens somática e germinativa no sentido da proteção das gerações futuras.

10º A diferenciação entre cura e melhoramento que se tem convencionado é um critério aparentemente técnico, pragmático e preciso. No entanto, é baseado eminentemente em valores cuja linha divisória é fluida, tênue e em certas condições facilmente manipulável pelas circunstanciais e interesses. São particularmente relevantes nesta questão as edições em linha somática ou germinal que visem curar ou prevenir doenças relacionadas a funções sociais ou melhorar características funcionais, vez que poderão conduzir a uma eugenia segregadora baseada em papéis sociais.

11º Parece haver uma hegemonia de pesquisas aplicadas sob domínio privado, o que pode refletir não apenas uma ausência de investimentos públicos, como também uma conformação dos possíveis produtos que possam ser resultantes da técnica aos interesses do mercado, o que por certo restringirá o acesso aos seus benefícios a apenas uma parcela da população em detrimento das demais, podendo ampliar a segregação social existente, baseada na capacidade econômica, no nível da genética.

12º Por outro lado, é preciso levar em conta que as desigualdades socioeconômicas globais e regionais são determinantes na forma como ricos e pobres serão submetidos e poderão enfrentar os riscos e ameaças que possam advir de CRISPR. Esta é uma preocupação fundamental que deve estar presente tanto no processo de pesquisa, como na sua regulamentação, incluindo no que se refere à biossegurança e bioproteção, de modo a garantir que os mais vulneráveis não se tornem duplamente prejudicados: de um lado pela restrição de acesso aos bens e produtos da técnica, de outro pela exposição maior aos riscos e ameaças que possam ocorrer.

13º A alta concentração de pesquisas institucionalizadas com CRISPR em poucos países sugere não apenas a formação de um bloco de conhecimento e domínio sobre o genoma nesta área, mas também uma concentração de patentes e produtos sob controle de poucas empresas e instituições, como que em direção a

formação do tal modelo Big Science de que fala Leite (2006). Como apontam Jonas e Potter, conhecimento e poder são os ingredientes de um progresso autônomo e perigoso, que constrói uma dinâmica compulsiva de crescimento autopropulsionado no qual “temos liberdade de dar o primeiro passo, mas nos tornamos escravos do segundo e de todos os passos subsequentes”. (Jonas, 2006, p. 78).

14º As pesquisas com CRISPR, em geral, embora se baseiem nos elementos fundantes da biologia e hegemonicamente da Teoria Sintética da Evolução, não evidenciam considerarem suficientemente as dissonâncias, lacunas e incertezas no interior da mesma, em especial no que se refere a biologia evolutiva e a epigenética, com impactos importantes sobre a análise de riscos e benefícios da técnica.

15º O estudo de CRISPR evidenciou que a abordagem bioética interdisciplinar, embora necessária, não é suficiente para a compreensão dos riscos e oportunidades envolvidos na técnica; é necessário a inclusão de uma abordagem transversal, transdisciplinar, que integre dialeticamente todo o conhecimento disponível e que consiga perceber e entender toda a dinâmica da sinergia da vida, dos menores fenômenos intramoleculares do DNA aos maiores sistemas ecológicos, dos mais primitivos processos homeostáticos aos mais intrincados mecanismos simbióticos, da mais simples expressão monogênica aos mais complexos fenômenos epigenéticos. Este talvez seja parte daquele “*novum*” de que fala Jonas, para o qual as éticas tradicionais não dão conta e “uma nova ética deve ser pensada”. (Jonas, 2006, p. 39). Dito de outra forma, a interdisciplinaridade não é suficiente para tratar dos problemas éticos destas novas biotecnologias como CRISPR, é necessário uma bioética transdisciplinar que primeiro integre transversal e sistemicamente todo o conhecimento específico disponível, para num segundo momento, a partir deste novo saber que não é a mera soma das partes e só é possível a partir de uma visão mais ampla das ciências, se debruçar sobre as questões éticas envolvidas.

16º As pesquisas com CRISPR evidenciam que as mesmas, não raras vezes deixam de considerar o conhecimento acumulado em outras áreas da própria genética e da biologia que não diretamente invocados pelo seu objeto de estudos, menos ainda de outras ciências. O problema é maior para a reflexão da análise de riscos, sobretudo para o meio ambiente.

17º Há uma aparente ausência de pesquisas unificadoras do conhecimento que vem rapidamente se acumulando em torno de CRISPR, transformando-o no que Potter chama de conhecimento perigoso. Isto não favorece a formação de um bloco

de conhecimento mais amplo para o domínio da técnica, para a superação dos problemas e desafios, minimização de riscos e potencialização de aplicações de maior interesse social.

18º Parece predominar nos estudos com CRISPR uma excessiva abordagem antropocentrista dos riscos e benefícios da técnica, em detrimento do meio ambiente e das demais espécies e desconsiderando que a afetação do meio ambiente também prejudica de alguma forma o ser humano.

19º Em geral, há um ecletismo difuso nos estudos que analisam os aspectos éticos dos riscos e benefícios que decorrem da técnica, embora seja perceptível uma predominância de bases éticas tradicionais, o que dificulta a construção de uma perspectiva de consenso, que contemple amplamente os riscos e benefícios e assuma para si como dever a responsabilidade de nossa geração em garantir que o nosso tempo presente, que as biotecnologias como CRISPR não ameacem o futuro e possam ser utilizadas com sabedoria para garantir uma sobrevivência autêntica de toda a biosfera, sem a qual a nossa sobrevivência estará sob risco.

20º É preciso mais conhecimento sobre CRISPR, sobre a genética, sobre a bioquímica, biologia, sobre a evolução, o meio ambiente e tudo o que está envolvido e em torno deles, mas não o conhecimento pulverizado que se acumula como um conhecimento perigoso, é preciso integrá-lo no contexto mais amplo da ciência e da vida para entender como os genes funcionam na dinâmica da existência e da evolução, para saber como intervir, como modificar e que consequências a edição de genes trará para o indivíduo, para as espécies e para o meio ambiente ao longo de gerações, disto talvez dependa a sobrevivência de cada um e de toda a biosfera.

21º O vácuo de uma regulamentação internacional para a pesquisa gênica, em especial com CRISPR é compatível com o vácuo na capacidade de reação dos organismos internacionais a eventos epidêmicos ou pandêmicos envolvendo agentes biológicos. No entanto, até o momento as iniciativas em ambos os temas parecem seguir caminhos independentes e assíncronos, o primeiro capitaneado pelo esforço de grupos de cientistas preocupados com os rumos da técnica e o segundo pela institucionalidade dos organismos internacionais preocupados com o surgimento de vírus e bactérias de grande risco e impacto para a saúde humana. No entanto, a regulação e proteção formam um binômio fundamental para a garantia global da vida e do meio ambiente e por isso mesmo precisam ser considerados em um único bloco de finalidade e sentido, que poderíamos designar no uso corrente por “gestão

sustentável da biotecnologia frente aos desafios de um futuro ambiental e socialmente aceitáveis”, ou em sentido mais amplo, como o que Potter designa de sabedoria: o conhecimento sobre como administrar o conhecimento que se tem em benefício da sobrevivência da humanidade e de toda a biosfera. (Potter, 2016).

22º CRISPR representa talvez o mais surpreendente e inusitado processo de democratização da pesquisa na área da genômica. Sob este aspecto, talvez maior até que o próprio PGH. Este é um avanço da maior importância para um novo modelo de desenvolvimento biotecnológico, por isso é necessário encontrar um ponto de equilíbrio entre segurança e democratização que permita administrar os problemas de biossegurança e bioproteção sem que isto conduza a barreiras que dificultem pesquisas fora de grandes e onerosas estruturas tradicionais e favoreçam o desenvolvimento de pesquisas colaborativas e compartilhadas, como parte de uma estratégia para reduzir a fragmentação do conhecimento e potencializar resultados.

23º Certamente um dos desafios mais difíceis a serem enfrentados se refere a como equilibrar a expectativa de benefícios que podem não se realizar, de uma parcela da sociedade que tem necessidades legítimas e urgentes de cura para doenças degenerativas e/ou letais, com os riscos envolvidos nas pesquisas e que terão que ser compartilhados por todos. Dito de outra forma, como conciliar a necessidade de vida daqueles que padecem e vão morrer, baseada nas promessas da biotecnologia de benefícios incertos, face ao risco de todos.

24 Este estudo tem caráter apenas amostral. Em razão disto, incompleto, mesmo porque, como dizíamos no início, não é tarefa que possa ser feita de uma única vez, por apenas uma pessoa. Além disso, o aprofundamento deste estudo poderá mostrar que algumas das conclusões a que chegamos podem estar incorretas ou imprecisas. A incorporação de mais conhecimentos, inclusive de áreas que não aprofundamos e outras que sequer tratamos, como a bioquímica e a biofísica, precisam ser consideradas para a formação de um conhecimento mais amplo do tema. Deste modo, recomendamos fortemente que mais pesquisas sejam feitas nesta perspectiva e que as mesmas possam servir como um ferramental útil ao debate sobre edição gênica e CRISPR.

Dito isto, consideramos que o atual estágio do conhecimento científico sobre o genoma das espécies, sobre os mecanismos evolutivos e sobre o frágil equilíbrio que sustenta a vida no planeta é ainda incipiente e, portanto, insuficiente para que o genoma dos seres vivos possa ser submetido à interferência humana. Entendemos

que o pesquisador, ao realizar experimentos com edição genética, seja em linhagem somática ou germinativa, precisa levar em consideração as incertezas no campo das ciências (para além da biologia molecular, expandido para as demais ciências da vida, da terra, das exatas e das humanidades) na exata medida dos riscos potenciais que a sua pesquisa representa para as gerações presente e futuras. A análise pormenorizada e criteriosa dos riscos potenciais envolvidos no uso da técnica CRISPR evidencia que, no momento atual, os riscos suplantam os possíveis benefícios a serem alcançados no processo. Concluimos que os pesquisadores devem ter a responsabilidade de esclarecer e envolver a sociedade como um todo no debate acerca dos problemas envolvidos nas pesquisas com a técnica CRISPR-Cas para que possam, a partir deste debate, orientar suas pesquisas e ações.

É fundamental que esse esclarecimento da sociedade não se confunda com estratégias de marketing, porque não é este tipo de convencimento que interessa e que necessitamos, mas daquele em que o envolvimento encontre um caminho no sentido da responsabilidade partilhada entre ciência e sociedade. Responsabilidade pelas escolhas em termos de propósitos a serem perseguidos, de projetos de pesquisa a serem implementados e de riscos e benefícios a serem partilhados. Esta responsabilidade precisa ter sua contramedida na forma de controle social, da mesma forma como governos, instituições e políticos a ele devem estar vinculados, vez que todos, em alguma medida influem e impactam na coletividade e no meio ambiente.

No início deste trabalho especulávamos sobre o que de fato a ciência pode fazer e o que de fato a sociedade deseja que se faça; sobre que ser humano, que sociedade e que mundo estamos semeando para as gerações futuras; sobre se existiria uma fronteira ética que nem a ciência e nem a sociedade devem ultrapassar. A essa altura podemos reconhecer o quão incomensuráveis são o poder da ciência e os desejos da sociedade e o quão perigoso pode ser a confluência destes dois mundos fora da égide da prudência e da ética. Devemos também admitir que, como sociedade, não temos sido seriamente capazes de nos impormos o dever de zelar pelo futuro do planeta e das gerações futuras para além de nossas existências, e este talvez seja o único motivo pelo qual a perseguição à eternidade possa realmente valer a pena. Precisamos admitir que há a necessidade de se estabelecer uma fronteira ética que não deve ser ultrapassada nem pela ciência e nem pela sociedade, e que a dificuldade de determinar qual seja este limite não está no conhecimento, mas no nosso modelo de sociedade socialmente estratificada, economicamente eugênica,

politicamente predatória, em que traduzimos o progresso em termos de sobrevivência, como luta sangrenta do mais forte.

É absolutamente necessário convencionar-se limites ao fazer ciência, da mesma forma que é imperioso impor limites à economia, à política e à sociedade; e esta não é uma construção que se possa fazer senão coletivamente, da mesma forma que não pode ser implementada e acompanhada senão pela via do controle social, a não ser que admitamos a existência de um grupo de seres superiores em conhecimento e sabedoria, que possam exercer por nós esse poder, mas estes não devem ser deste mundo, assim como as gerações futuras não são deste nosso tempo. Não podemos contar nem com uns, nem com outros, ainda que possamos mirar a ambos. Estamos sós diante de um futuro que imaginamos que poderíamos esvaziar para podermos preenchê-lo com nossa ânsia de progresso, contudo, ele de fato não está vazio, ele sempre estará preenchido pelas amarras da história, uma história que poderá ser de prudência e responsabilidade ou, como apontam Jonas e Potter, uma terra arrasada em que a nossa sobrevivência estará ameaçada. Não existe saída sem o agir, assim como não pode existir o agir sem uma ética a dar-lhe sentido, significado e direção.

Tudo na ciência, assim como na vida, parece ter consequência: seja decorrente do conhecimento que se tem, seja pela sua falta. Todo o conhecimento acumulado sobre o genoma e como ele funciona, por mais impressionante que seja, ainda é muito pequeno diante do que nos falta para manipulá-lo com segurança. Poderíamos comparar CRISPR a uma viagem de avião da América para a Europa em uma aeronave de última geração e dotada da mais avançada tecnologia disponível. No entanto o piloto domina apenas 3% deste conhecimento (ou 10% se preferirem); ele não tem a menor ideia do que fazem ou para que servem os outros 97 ou 90% dos instrumentos de voo e dos comandos. Teremos que decidir se faremos este voo ou se investiremos no piloto para que ele desenvolva mais conhecimento antes de nos aventurarmos numa jornada de tamanhas incertezas. Ainda assim, mesmo que o piloto o tivesse, ou quando obter total domínio da tecnologia e da aeronave, em caso de queda iminente – que pode ser decorrente de fortes reveses do clima, afinal, apesar dos esforços até hoje empreendidos, não há tecnologia para dominar a fúria da natureza; ou de falhas ou sabotagem no equipamento, possibilidades que nunca podem ser descartadas –, todo o conhecimento do piloto talvez não seja suficiente para controlar a aeronave e salvar todas as vidas, e é justamente neste momento que



teremos que contar com a única coisa que poderá nos salvar: a sabedoria do piloto, e rezar para que ele a tenha, para fazer as escolhas certas. Bem verdade que podemos também contar com a sorte, mas esta não é uma opção, afinal, ela já estará dada desde sempre e pode não ser a nosso favor.

Poderíamos comparar interferir no meio ambiente a um jogo. A paleontologia e a evolução nos ensinam que nenhuma espécie joga este jogo mais de uma vez. Não faz diferença ser grande, estar no topo da cadeia alimentar, ter um cérebro maior ou auto impingir características presumivelmente superiores, quem perde está fora do jogo e a despeito do resultado, a natureza segue seu curso como se aquele punhado de vidas perdidas nunca tivesse existido, a não ser pelas marcas no registro fóssil. Como disse Leakey (1997), na natureza, a regra parece ser a extinção, mas parece que insistimos em ignorá-la e não conseguimos controlar nosso ímpeto por dominá-la e subjugá-la. A questão é se, num cochilo, esse ímpeto descontrolado não nos levará a cumprir aquela regra da evolução sobre nós mesmos.

Com efeito, estamos falando de um novo tipo de poder, não um poder de produzir com mais eficiência a comida que atenderá a fome do mundo, nem um poder complexo de curar uma doenças, estamos falando de um poder de impactar de maneira imprevisível e inesperada sobre uma vida e lhe impor mais danos do que benefícios, de afetar uma população de animais ou plantas e induzir a um desequilíbrio ambiental de difícil reversibilidade, de eliminar uma espécie; mas não da forma lenta e gradual como fizemos inúmeras vezes pela nossa ação predatória sobre natureza e pela poluição ambiental, estamos falando do poder absoluto de eliminar uma espécie a partir de uma decisão, de um *gene drive*, de um erro de laboratório ou de um ato de guerra, em um prazo de tempo jamais pensado. Estamos falando de um poder de mudar a espécie humana a partir de um modelo vazio em essência e em finalidade, onde nenhuma certeza é possível, nem mesmo o futuro.

Como se diz, a ciência é uma construção coletiva na qual cada um coloca um pequeno tijolo. CRISPR é um produto dessa ciência, é herdeira de seus acertos e desacertos, das certezas e das incertezas, do conhecimento que lhe excede e também do que lhe falta, de todo o bem e de todo o mal que pode produzir. CRISPR é herdeira do futuro sonhado em cada bancada do laboratório, em cada página escrita, e ter consciência dessa história é um passo valioso em direção ao futuro.

A ciência tem pressa, quem padece também. Aqueles que vão morrer não tem mais nada, nem tempo. No entanto é preciso lembrar que morrer faz parte do curso

natural da vida, ainda que possamos nos rebelar contra o tempo, por considerá-lo eventualmente antecipado, ou contra a forma, por considerá-la indigna. Por outro lado, como conciliar os interesses humanamente legítimos dessas pessoas por querer viver uma vida plena em saúde e dignidade com os riscos envolvidos e que podem afetar não apenas elas, mas muitas mais vidas, não apenas as humanas, mas também de outros seres vivos, talvez de toda uma população, talvez até de uma espécie inteira. Como equacionar um dilema de tal dimensão se sequer é possível garantir que, se a cura chegar, irá beneficiar tantos quanto dela necessitam, se muitos certamente a ela não terão acesso? Vale a pena correr o risco?

Mas em verdade, para sermos justos, devemos reconhecer que CRISPR não é uma ameaça, a ameaça somos nós. Nós, cientistas, é que arriscamos afirmar que um risco desconhecido é aceitável. Esquecemos que na balança do conhecimento, o que sabemos ainda é imensamente menor do que o que não sabemos. Abdicamos do conhecimento mais amplo e de longo alcance em favor da alta especialização, e parece que não queremos reconhecer que esta escolha, uma limitação importante, não nos capacita para decidir com sabedoria sobre questões mais amplas e de longo alcance, que extrapolam em muito o limitado conhecimento que escolhemos perseguir.

Evidentemente há uma sociedade que clama e necessita de cura, mas não há como negar que há também uma parcela da população que deseja o melhoramento de características fenotípicas. Ao mesmo tempo, o nosso processo civilizatório, a realidade do mundo global e dos interesses econômicos em torno de CRISPR não permitem crer que a cura, que os benefícios que possam advir de CRISPR serão para todos. Nem a ciência é neutra e nem a sociedade pode ser ingênua.

A edição de genes com uso de CRISPR é um poder real, é do nosso tempo e está sob nossa responsabilidade, é uma promessa que vai além de dominar as “falhas da evolução”, podendo tratar de subjugar a natureza a um projeto, a um modelo de perfeição, a uma visão de futuro que é niilista, que a rigor está vazia, que não contém absolutamente nada.

A fantástica quantidade de pesquisas no campo da engenharia no genoma, da genética, da biologia e de outras áreas que percorremos, todo esse conhecimento acumulado são uma evidência inequívoca de que acumulamos um excesso de conhecimento que não dialoga consigo mesmo. Escolhemos acreditar no

conhecimento como um bem em essência e talvez essa crença o tenha excedido em demasia, e a confiança à prudência, mais do que deveria.

Parece adequado considerar que se de fato os riscos da edição gênica, inclusive com CRISPR-Cas, são compartilhados por todos, é justo que os benefícios também o sejam. Infelizmente, se na retórica isto parece concordar com algum modelo de justiça e equidade, de fato a realidade é bem mais desafiadora. Ricos e pobres não estão sujeitos aos mesmos riscos da mesma maneira e tampouco tem condições de enfrentá-los em condições de igualdade, da mesma forma que o acesso aos bens sociais e tecnológicos não o são de maneira igualitária:

Sem comprometimento dos princípios éticos - direitos humanos e liberdade, justiça, adequação, equidade - é recusado ao cidadão global fraco e desfavorecido o acesso à educação, moradia, empregos e alimentos; ele é colocado em urna batalha desproporcional contra o cidadão privilegiado em um ambiente neoliberal e altamente individualista. (Velji e Bryant, 2015, p. 523).

Talvez a bondade seja o ingrediente último para transformar o conhecimento de força bruta em sabedoria, e ao que parece estamos distantes tanto da primeira como da última.

O longo caminho percorrido pela ciência ao dividir o mundo em duas partes – a *res extensa* (a natureza) e a *res cogitans* (a razão) – a fez acreditar que poderia não apenas intervir na natureza, mas sobretudo dominá-la. Ao dividir o indivisível, concedeu à razão humana um caráter extraordinário, quintessencial, que vai além do mundo para se postar como superior a ele. Fez o homem acreditar que poderia ser o revisor da criação e que, estando fora do mundo, não estaria sujeito às consequências dessa intervenção. A ciência, ao acreditar na superioridade desta razão, creditou a ela uma infalibilidade que transcende seus próprios dogmas (como a da teoria da evolução das espécies) e agora assume uma posição não apenas de estar fora do mundo, mas também fora do tempo, o que lhe permite não somente dominar a natureza, mas sobretudo subjugar-la a um projeto de perfeição.

Se historicamente a ciência, a partir do iluminismo, fez a opção de banir Deus do mundo, esta escolha trouxe como consequência a retirada dos limites que a transcendência impunha à ação humana, e ao retirá-la tornou-se imune a si mesma porquanto desvencilhada e liberta de qualquer ética que pudesse lhe orientar a ação e impor limites aos seus projetos. Nesse vazio de essência, que é também um vazio de sentido, todos os projetos puderam ser colocados à mesa, todas as ações puderam

ser realizadas. No entanto esse poder, que se atribuiu a si mesmo como absoluto e sem limites, não veio acompanhado da sabedoria necessária para orientar-lhe nem a ação, tampouco o seu caminho, e do que vimos e do que fizemos a esse mundo neste último século, não parece que fizemos as melhores escolhas, nem para a natureza, nem para as futuras gerações. Estamos chegando a um ponto de esgotamento dos recursos naturais e ao mesmo tempo de destruição do meio ambiente que parece estar muito próximo do limite da reversibilidade, e com isso comprometemos não apenas a nós mesmos, mas também as gerações futuras e o próprio planeta. Insistimos na esperança de que biotecnologias como CRISPR poderão ser a remediação de nossos problemas, inclusive dos que causamos, mas não temos sido capazes de reconhecer que nos falta a sabedoria necessária para administrar todo esse conhecimento acumulado em uma direção diferente do que vimos seguindo. Senão por sabedoria, ao menos por um lampejo de clarividência de que liberdade não significa poder fazer tudo, mas sim poder fazer as escolhas certas, precisamos reconhecer que nossas ações estão pondo em risco o futuro, e por isso temos o dever de assumir responsabilidade por garantir uma sobrevivência autêntica tanto de nossa espécie como de toda a biosfera, não apenas porque dependemos dela, mas sobretudo porque somos parte dela e compartilhamos juntos esse pequeno planeta e o seu destino. (Jonas, 2006; Potter, 2016, 2018).

O conhecimento talvez seja um dos maiores paradoxos do nosso tempo: ele nos mostra uma quantidade ilimitada de caminhos, mas ao mesmo tempo não nos leva a lugar nenhum. Como transformar esse intrincado quebra-cabeças do conhecimento em que nos metemos em um mosaico de sabedoria? É preciso adentrar nas entranhas do conhecimento, fazer uma imersão profunda em busca do conhecimento mais amplo. É preciso se perguntar o tempo todo o que fazer com o conhecimento que se tem, mas sabendo de partida que a resposta passa necessariamente pelo conhecimento que não se tem.

Os legados históricos de Alfred Nobel e Albert Einstein são o testemunho de que entre o bem e o mal há uma sociedade que padece e clama por um futuro no qual ela espera não apenas estar incluída e poder participar, mas também poder decidir. Não cabe à ciência abrir-lhes a porta, pois esta não lhe pertence, cabe apenas, espera-se, que não se aproprie das suas chaves.

A teoria da ética precisa tanto da representação do mal quanto da representação do bem, e mais ainda quando este último se tornou tão borrado

ao nosso olhar, necessitando ser ameaçado pela antevisão de novos males, para ganhar alguma nitidez. (Jonas, 2006, p. 352).

Talvez chegue um dia em que tenhamos criado a mais sublime das perfeições, talvez um ser híbrido que tenha todas as mais perfeitas e plenas aptidões humanas e as mais incríveis capacidades e habilidades da inteligência artificial, absoluto, eterno e finalmente livre de todas as imperfeições e de todas fragilidades de nossa humanidade. Talvez um dia esse ser se veja diante de um estranho dilema: olhar para trás e ver toda a destruição que causamos ao meio ambiente, a um ponto de esgotamento irreversível; ver que fomos capazes de produzir armas para destruir nosso pequeno planeta inúmeras vezes e incapazes de nos arrependermos de as termos feito; que não conseguimos passar um dia sequer sem uma guerra em algum lugar do mundo; que conseguimos produzir comida para matar toda a fome do mundo e que apesar disso milhões morrem de fome todos os dias; que atingimos um nível tal de conhecimento capaz de criar esse ser perfeito, mas que não fomos capazes de usar esse mesmo conhecimento para salvar a vida de milhões que morrem por falta de assistência e acesso à saúde ... e dadas tantas evidências, seja pela história ou pela razão, de que nossas imperfeições são uma ameaça ao futuro, que nossa espécie é como um câncer em metástase, e neste momento talvez tenha ele que decidir pela salvação do mundo ou de seu criador ... nesse momento talvez tenhamos que depender de um sentimento tão mundano e carcomido que parece, estamos banindo de nossa humanidade e que talvez até seja um “defeito” que tenhamos corrigido nesse ser perfeito: a compaixão. Oxalá, o Criador que banimos com a razão e o conhecimento, este dia nunca chegue!

## REFERÊNCIAS

A S NAVARRO, M. V *et al.* Structural Basis for c-di-GMP-Mediated Inside-Out Signaling Controlling Periplasmic Proteolysis. **PLoS Biol**, v. 9, n. 2, 2011.

ABBASI, K. Free the slaves. **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 318, n. 7198, p. 1568–9, 12 jun. 1999.

ABBOTT, A. Project set to map marks on genome. **Nature**, v. 463, n. 7281, p. 596, 2 fev. 2010.

ACHENBACH, J.; JOHNSON, C. Y. **Broad Institute scientist prevails in epic patent fight over CRISPR.** Disponível em: <[https://www.washingtonpost.com/news/speaking-of-science/wp/2017/02/15/broad-institute-scientist-prevails-in-epic-patent-fight-over-crispr/?utm\\_term=.343b608d93bf](https://www.washingtonpost.com/news/speaking-of-science/wp/2017/02/15/broad-institute-scientist-prevails-in-epic-patent-fight-over-crispr/?utm_term=.343b608d93bf)>. Acesso em: 27 fev. 2018.

ADDGENE. **Addgene: Popular Plasmids.** Disponível em: <<http://www.addgene.org/popular-plasmids/>>. Acesso em: 5 jul. 2018.

AGÊNCIA FAPESP. **Cientistas calculam quantas espécies existem.** Disponível em: <[http://agencia.fapesp.br/cientistas\\_calculam\\_quantas\\_especies\\_existem/14383/](http://agencia.fapesp.br/cientistas_calculam_quantas_especies_existem/14383/)>. Acesso em: 20 mar. 2018.

ALMEIDA FILHO, E. E. DE *et al.* Cartas. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, v. 11, n. 2, p. 519–523, ago. 2004.

\_\_\_\_\_. Alguns aspectos do mérito científico da Teoria do Design Inteligente. **6º ENCONTRO NACIONAL DE CRIACIONISTAS**, p. 1–22, 2008.

ALPER, T. *et al.* Does the Agent of Scrapie Replicate without Nucleic Acid ? **Nature**, v. 214, n. 5090, p. 764–766, 20 maio 1967.

ANNAN, K. **Kofi Annan - The Nobel Peace Prize 2001- Nobel Lecture.** Disponível em: <<https://www.nobelprize.org/prizes/peace/2001/annan/lecture/>>. Acesso em: 17 set. 2018.

ARIANNE, M. *et al.* PATERNAL INHERITANCE OF MITOCHONDRIAL DNA. **Brief Report N Engl J Med**, v. 576, n. 8, 2002.

Asilomar conference on DNA recombinant molecules. **Nature**, v. 255, p. 442–444, 1975.

BALTIMORE, D.; BAYLIS, F.; *et al.* **On Human Gene Editing: International Summit Statement Scientific.** Disponível em: <<http://www8.nationalacademies.org/onpinews/newsitem.aspx?RecordID=12032015a>>.

BALTIMORE, D.; BERG, P.; *et al.* Biotechnology. A prudent path forward for genomic engineering and germline gene modification. **Science (New York, N.Y.)**, v. 348, n. 6230, p. 36–8, 3 abr. 2015.

BARBOSA, LUCAS, L. H. As Convenções de Genebra e o Estatuto de Roma : Normas de Efeito Moral ? **Rev. SJRJ**, v. 17, p. 289–318, 2010.

BARRANGOU, R. *et al.* CRISPR Provides Acquired Resistance Against Viruses in Prokaryotes. **Science**, v. 315, n. 5819, p. 1709–1712, 23 mar. 2007.

BARRANGOU, R.; HORVATH, P. CRISPR: New Horizons in Phage Resistance and Strain Identification. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 3, n. 1, p. 143–162, 10 abr. 2012.

BARRANGOU, R.; MARRAFFINI, L. A. CRISPR-Cas systems: Prokaryotes upgrade to adaptive immunity. **Molecular cell**, v. 54, n. 2, p. 234–44, 24 abr. 2014.

BARROS, M. P. S. DE. **Caracterização Genética de cepas de Yersinia pestis**. [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 2012.

BBC. **Dez gráficos que explicam o impacto do câncer no mundo - BBC Brasil**. Disponível em: <[http://www.bbc.com/portuguese/noticias/2016/02/160204\\_gch\\_graficos\\_cancer\\_fn](http://www.bbc.com/portuguese/noticias/2016/02/160204_gch_graficos_cancer_fn)> . Acesso em: 22 maio. 2018.

BBC BRASIL. **Brasil tem 13 milhões de pessoas com doenças raras, diz pesquisa - BBC Brasil - Notícias**. Disponível em: <[http://www.bbc.com/portuguese/noticias/2013/03/130311\\_doencas\\_raras\\_pai.shtml](http://www.bbc.com/portuguese/noticias/2013/03/130311_doencas_raras_pai.shtml)> . Acesso em: 22 maio. 2018.

BEDROSIAN, T. A. *et al.* Early life experience drives structural variation of neural genomes in mice. **Science**, v. 359, n. 6382, p. 1395–1399, 23 mar. 2018.

BERNSTEIN, B. E. *et al.* The NIH Roadmap Epigenomics Mapping Consortium. **Nature biotechnology**, v. 28, n. 10, p. 1045–8, out. 2010.

BIANCO, B.; MONTAGNA, E. Avanços e novas tecnologias para o estudo das doenças mitocondriais. **Einstein - Faculdade de Medicina do ABC**, v. 14, n. 2, p. 291–294, 2016.

BIOETHICS COMMITTEE, I. **Report of the IBC on updating its reflection on the Human Genome and Human Rights; 2015**. Paris: [s.n.]. Disponível em: <<http://unesdoc.unesco.org/images/0023/002332/233258E.pdf>>. Acesso em: 26 fev. 2018.

BIRD, A. Perceptions of epigenetics. **Nature**, v. 447, n. 7143, p. 396–398, 24 maio 2007.

BLENDON, R. J.; GORSKI, M. T.; BENSON, J. M. The Public and the Gene-Editing Revolution. **New England Journal of Medicine**, v. 374, n. 15, p. 1406–1411, 14 abr. 2016.

BONDURIANSKY, R.; DAY, T. Nongenetic Inheritance and Its Evolutionary Implications. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 40, n. 1, p. 103–125, 10 dez. 2009.

BOSLEY, K. S. *et al.* CRISPR germline engineering—the community speaks. **Nature Biotechnology**, v. 33, n. 5, p. 478–486, 1 maio 2015.

BRADBURY, J. Human epigenome project - up and running. **PLoS biology**, v. 1, n. 3, p. E82, dez. 2003.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE CIÊNCIA, T. E I. E. D. DO C. I. E I. EM S. **Classificação de Risco dos Agentes Biológicos**. 2ª ed. Brasília: [s.n.].

BRASIL. **Decreto nº 5.705, de 16 de fevereiro de 2006 - Promulga o Protocolo de Cartagena sobre Biossegurança da Convenção sobre Diversidade Biológica** Brasil, 2006. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2004-2006/2006/Decreto/D5705.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2006/Decreto/D5705.htm)>. Acesso em: 10 set. 2018

\_\_\_\_\_. **Relatório da Comissão Nacional da Verdade - vl t1**. Brasília: CNV, 2014a. v. 1

\_\_\_\_\_. **Relatório da Comissão Nacional da Verdade: Texto Temáticos**. Brasília: CNV, 2014b. v. 2

BRIN, S. *et al.* **Breakthrough Prize – Recipients Of The 2015 Breakthrough Prizes In Fundamental Physics And Life Sciences Announced**. Disponível em: <[https://breakthroughprize.org/?controller=Page&action=news&news\\_id=21](https://breakthroughprize.org/?controller=Page&action=news&news_id=21)>. Acesso em: 27 ago. 2018.

BROUNS, S. J. J. *et al.* Small CRISPR RNAs Guide Antiviral Defense in Prokaryotes. **Science**, v. 321, n. 5891, p. 960–964, 15 ago. 2008.

BRYANT, J. H. *et al.* Addressing social determinants of health by integrating assessment of caregiver-child attachment into community based primary health care in urban Kenya. **International journal of environmental research and public health**, v. 9, n. 10, p. 3588–98, 12 out. 2012.

CALLAWAY, E. UK moves closer to allowing ‘three-parent’ babies. **Nature**, 30 nov. 2016.

CAPALBO, D. M. F. **Estado da arte em estudos de biossegurança ambiental de organismos geneticamente modificados (OGM) e a prática da Embrapa**. Jaguariúna: [s.n.].

CARDOSO, D. R.; CARDOSO, T. A. DE O. Bioterrorismo: dados de uma história recente de riscos e incertezas. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, n. suppl 1, p. 821–830, 2011.

CARDOSO, T. A. DE O. *et al.* Biosseguridade e biossegurança: Aplicabilidades da segurança biológica. **Interciencia**, v. 33, n. 8, p. 561–568, 2008.

CARDOSO, T. A. DE O.; VIEIRA, D. N. Bacillus anthracis como ameaça terrorista. **Saúde em Debate**, v. 39, n. 107, p. 1138–1148, 2015.

CAROLINA, A. *et al.* Large-scale mitogenomics enables insights into Schizophora (Diptera) radiation and population diversity. **Nature Publishing Group**, 2016.

CEPAL. **Em reunião da CEPAL , autoridades defendem igualdade no centro do desenvolvimento sustentável**. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/em-reuniao-da-cepal-autoridades-latino-americanas-defendem-igualdade-no-centro-do->



desenvolvimento-sustentavel/>. Acesso em: 1 jun. 2016.

CERDEIRA, L. *et al.* Draft genome sequence of a CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* sequence type 340 (clonal complex 258) isolate from a food-producing animal Whole-genome sequencing WGS Multidrug resistance Swine. **Integrative Medicine Research**, v. 7, p. 67–68, 2016.

\_\_\_\_\_. Draft genome sequence of an environmental multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST340/CC258 harbouring bla CTX-M-15 and bla KPC-2 genes. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 8, p. 108–109, mar. 2017.

CHAKRABORTY, S. *et al.* Comparative network clustering of direct repeats (DRs) and cas genes confirms the possibility of the horizontal transfer of CRISPR locus among bacteria. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 56, n. 3, p. 878–887, 1 set. 2010.

CHARO, R. A. *et al.* Human Genome Editing Science, Ethics, and Governance. **National Academy of Sciences and National Academy of Medicine**, 2017.

CHARPENTIER, E. CRISPR-Cas9: how research on a bacterial RNA-guided mechanism opened new perspectives in biotechnology and biomedicine. **EMBO molecular medicine**, v. 7, n. 4, p. 363–5, abr. 2015.

CHERTOW, D. S. Next-generation diagnostics with CRISPR. **Science**, v. 360, n. 6387, p. 381–382, 27 abr. 2018.

CHI, K. R. The dark side of the human genome. **Nature**, v. 538, n. 7624, p. 275–277, 13 out. 2016.

CHO, I.; BLASER, M. J. The human microbiome: at the interface of health and disease. **Nature Reviews Genetics**, v. 13, n. 4, p. 260–270, 13 abr. 2012.

COHEN, J. Upgrade makes genome editor CRISPR more muscular, precise. **Science**, 28 fev. 2018a.

\_\_\_\_\_. Federal appeals court hears CRISPR patent dispute. **Science**, 30 abr. 2018b.

COLLINS, FRANCIS, S. **Statement on NIH funding of research using gene-editing technologies in human embryos**. Disponível em: <<https://www.nih.gov/about-nih/who-we-are/nih-director/statements/statement-nih-funding-research-using-gene-editing-technologies-human-embryos>>. Acesso em: 18 set. 2018.

COMISSÃO ESTADUAL DA VERDADE TERESA URBAN. **Relatório da Comissão Estadual da Verdade do Paraná / Comissão Estadual da Verdade Teresa Urban**. São Paulo: TikiBooks, 2017. v. 1

CONCEIÇÃO-NETO, O. C. *et al.* Detection of the plasmid-mediated mcr-1 gene in clinical KPC-2-producing *Escherichia coli* isolates in Brazil. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 50, n. 2, p. 282–284, ago. 2017.

CONFERENCIA EPISCOPAL ESPAÑOLA. **Sagrada Biblia**. Madrid, Espanha: Biblioteca de Autores Cristianos, 2011. v. 43

CONG, L. *et al.* Multiplex Genome Engineering Using CRISPR/Cas Systems. **Science**,

v. 339, n. 6121, p. 819–823, 15 fev. 2013.

CONT, V. DEL. Francis Galton: eugenia e hereditariedade. **Scientiae Studia**, v. 6, n. 2, p. 201–218, 2008.

CORRÊA, M. V. O admirável Projeto Genoma Humano. **Physis - Revista de Saúde Coletiva**, p. 1–12, dez. 2002.

COSTA, E. DE B. O.; PACHECO, C. Micro-RNAs: Perspectivas atuais da regulação da expressão gênica em eucariotos MicroRNAs: current perspectives of gene expression regulation in eukaryotes. **Biosaúde, Londrina**, 2012.

COURT OF JUSTICE OF THE EUROPEAN UNION. **Court of Justice of the European Union - PRESS RELEASE Nº 111/18**, 2018. Disponível em: <[www.curia.europa.eu](http://www.curia.europa.eu)>. Acesso em: 7 set. 2018

COX, D. B. T.; PLATT, R. J.; ZHANG, F. Therapeutic genome editing: prospects and challenges. **Nature medicine**, v. 21, n. 2, p. 121–31, 1 fev. 2015.

CRUZ, I. V. A Molécula da Vida. *In*: **Módulo II - Bases históricas e conceituais da genética unidade 6**. [s.l.: s.n.]. .

CTNBIO - COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA. **Resolução Normativa nº 02, de 27/11/2006** Brasil, 2006. Disponível em: <<http://www2.fcfar.unesp.br/Home/CIBio/ResolucaoNormativa02.pdf>>. Acesso em: 23 fev. 2018

CUNHA, S. M. G. *et al.* EPIGENÉTICA: ESTARIA LAMARCK CERTO? **60ª Reunião Anual da SBPC 60ª**, p. 4–5, 2016.

CYRANOSKI, D. Ethics of embryo editing divides scientists. **Nature**, v. 519, n. 7543, p. 272–272, 18 mar. 2015.

\_\_\_\_\_. **Replications, ridicule and a recluse: The controversy over NgAgo gene-editing intensifies** **Nature**, 8 ago. 2016. Disponível em: <<http://www.nature.com/doi/10.1038/536136a>>. Acesso em: 5 set. 2018

D'OLIVEIRA, R. **Doenças mitocondriais** XII Curso Básico de Doenças Hereditárias do Metabolismo. **Anais...Coimbra**: 2014 Disponível em: <[https://asic.pt/images/nova\\_pasta/casos\\_clinicos\\_2014/AP\\_13\\_XII\\_Curso\\_DHM\\_do\\_encas\\_mitocondriais.pdf](https://asic.pt/images/nova_pasta/casos_clinicos_2014/AP_13_XII_Curso_DHM_do_encas_mitocondriais.pdf)>. Acesso em: 10 jul. 2018

DARWIN, C. **A Origem das Espécies Através da Seleção Natural ou a Preservação das Raças Favorecidas na Luta Pela Sobrevivência**. Tradução Ana Afonso. 6. ed. Leça da Palmeira, Portugal: Planeta Vivo, 2009. v. 1

DELELLA, F. K. *et al.* **Expressão Diferencial de MicroRNAs no Câncer de Próstata** **Revista Brasileira de Cancerologia**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://microrna.sanger.ac.uk/>>. Acesso em: 30 jul. 2018.

DENNETT, D. C. **A perigosa idéia de Darwin: a evolução e os significados da vida**. Rio de Janeiro: Rocco, 1998.

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA. **Manual de biossegurança do departamento de**

química. Aveiro: [s.n.]. v. 1

DEWHIRST, F. E. *et al.* Discordant 16S and 23S rRNA gene phylogenies for the genus *Helicobacter*: implications for phylogenetic inference and systematics. **Journal of bacteriology**, v. 187, n. 17, p. 6106–18, set. 2005.

DICKEL, D. E. *et al.* Ultraconserved Enhancers Are Required for Normal Development. **Cell**, v. 172, n. 3, p. 491–499.e15, jan. 2018.

DOBZHANSKY, T. Nothing in Biology Makes Sense Except in the Light of Evolution. **The American Biology Teacher**, v. 35, n. 3, p. 125–129, 1973.

DOUDNA, J. Perspective: Embryo editing needs scrutiny. **Nature**, v. 528, n. 7580, p. S6–S6, 2 dez. 2015a.

\_\_\_\_\_. Genome-editing revolution: My whirlwind year with CRISPR. **Nature**, v. 528, n. 7583, p. 469–471, 22 dez. 2015b.

DOUDNA, J. A.; CHARPENTIER, E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. **Science**, v. 346, n. 6213, p. 1258096–1258096, 28 nov. 2014.

DUJON, B. **Somos todos mutantes.** Disponível em: <<http://diplomatie.org.br/somos-todos-mutantes/>>. Acesso em: 14 mar. 2018.

EID, A.; ALSHAREEF, S.; MAHFOUZ, M. M. CRISPR base editors: genome editing without double-stranded breaks. **Biochemical Journal**, v. 475, n. 11, p. 1955–1964, 15 jun. 2018.

ENCODE PROJECT CONSORTIUM. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. **Nature**, v. 489, n. 7414, p. 57–74, 6 set. 2012.

EPIGENOME NOE. **Epigenome NoE - Epigenome Network of Excellence.** Disponível em: <<http://www.epigenome-noe.net/>>. Acesso em: 8 ago. 2018.

EPINAT, J.-C. A novel engineered meganuclease induces homologous recombination in yeast and mammalian cells. **Nucleic Acids Research**, v. 31, n. 11, p. 2952–2962, 1 jun. 2003.

ERP, P. B. VAN *et al.* The history and market impact of CRISPR RNA-guided nucleases. **Current Opinion in Virology**, v. 12, p. 85–90, jun. 2015.

EZKURDIA, I. *et al.* Multiple evidence strands suggest that there may be as few as 19 000 human protein-coding genes. **Human Molecular Genetics**, v. 23, n. 22, p. 5866–5878, 15 nov. 2014.

FACHIN, P. **Uso de antimicrobianos na agropecuária e o retorno de doenças reemergentes - Entrevista especial com Arnildo Korb** Revista IHU On-Line UNISINOS, , 2016. Disponível em: <<http://www.ihu.unisinos.br/159-noticias/entrevistas/553970-uso-de-antimicrobianos-na-agropecuaria-e-o-retorno-de-doencas-reemergentes-entrevista-especial-com-arnildo-korb>>. Acesso em: 29 abr. 2016

FAINTUCH, J. Um futuro mais crispado (CRISPR/Cas 9). **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. d, n. 4, p. 269–270, 2015.

FANTAPPIE, M. Epigenética e Memória Celular. **Revista Carbono**, n. 3, p. 1–5, 2013.

FELIZARDO, A. B. **Críticas Atuais ao Neodarwinismo : A Ampliação da Janela Explicativa da Teoria Evolutiva Contemporânea**. [s.l.] Universidade Federal de Minas Gerais, 2006.

FERNANDES, M. R. *et al.* First report of the globally disseminated IncX4 plasmid carrying the *mcr-1* gene in a colistin-resistant *Escherichia coli* sequence type 101 isolate from a human infection in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n. 10, p. 6415–6417, out. 2016.

FERRARELLI, L. K. Epigenetic ignition of melanoma. **Science Signaling**, v. 11, n. 521, p. eaat5334, 13 mar. 2018.

FERREIRA, A. *et al.* Sickle Hemoglobin Confers Tolerance to Plasmodium Infection. **Cell**, v. 145, p. 398–409, 2011.

FERREIRA, F. A. **DNA**. Disponível em: <<http://brasilecola.uol.com.br/biologia/dna.htm>>. Acesso em: 30 maio. 2016.

FIOCRUZ. **Classificação de Risco**. Disponível em: <[http://www.fiocruz.br/biosseguranca/Bis/lab\\_virtual/classificacao-de-risco.htm](http://www.fiocruz.br/biosseguranca/Bis/lab_virtual/classificacao-de-risco.htm)>.

FIORAVANTI, C.; PIVETTA, M. Golpe no orgulho vão. **Pesquisa Fapesp**, 2001.

FRAGA, M. F. *et al.* Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. **PNAS**, p. 10604–10609, 2005.

FRAZIER, M. E. *et al.* Realizing the Potential of the Genome Revolution: The Genomes to Life Program. **Science**, v. 300, n. 5617, p. 290–293, 11 abr. 2003.

FREIRE, D. Pesquisadores mapeiam toda a população de microrganismos da cana - de - açúcar. **Agência FAPESP**, p. 2–4, 2016.

\_\_\_\_\_. **Encontrada no Brasil bactéria resistente a um dos mais poderosos antibióticos**. Disponível em: <<http://agencia.fapesp.br/encontrada-no-brasil-bacteria-resistente-a-um-dos-mais-poderosos-antibioticos/23749/>>.

FRIEDMANN, T. *et al.* ASGCT and JSGT Joint Position Statement on Human Genomic Editing. **Molecular Therapy**, v. 23, n. 8, p. 1282, ago. 2015.

FUTUYMA, D. J. **Biologia Evolutiva**. 2. ed. [s.l.: s.n.].

GAJ, T. *et al.* ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. **Trends in biotechnology**, v. 31, n. 7, p. 397–405, jul. 2013.

GANTZ, V. M. *et al.* Highly efficient Cas9-mediated gene drive for population modification of the malaria vector mosquito *Anopheles stephensi*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, n. 49, p. E6736-43, 8 dez. 2015.

GANTZ, V. M.; BIER, E. Genome editing. The mutagenic chain reaction: a method for converting heterozygous to homozygous mutations. **Science (New York, N.Y.)**, v. 348, n. 6233, p. 442–4, 24 abr. 2015.

GAZETA DO POVO. **Ética, eugenia e milhões de dólares: o lado obscuro da revolução da edição genética.** Disponível em: <<http://www.gazetadopovo.com.br/vida-e-cidadania/etica-eugenia-e-milhoes-de-dolares-o-lado-obscuro-da-revolucao-da-edicao-genetica-90mub1u3s1f08xjw1qhr4hjyw>>. Acesso em: 10 maio. 2016.

GEARING, M. **CRISPR 101: A Desktop Resource.** [s.l.: s.n.], v. 2016

GEE, H. A journey into the genome: what's there. **Nature**, 15 fev. 2001.

GENETIC SCIENCE LEARNING CENTER. **Epigenetics & Inheritance.** Disponível em: <<https://learn.genetics.utah.edu/content/epigenetics/inheritance/>>. Acesso em: 3 ago. 2018.

GIGEK, C. DE O. **Regulação epigenética no envelhecimento e no câncer gástrico.** [s.l.] Universidade Federal de São Paulo, 2011.

GODDE, J. S.; BICKERTON, A. The repetitive DNA elements called CRISPRs and their associated genes: Evidence of horizontal transfer among prokaryotes. **Journal of Molecular Evolution**, v. 62, n. 6, p. 718–729, 2006.

GOULD, S. J. **O Polegar do Panda.** 2. ed. [s.l.: s.n.].

GOULD, S. J.; VRBA, E. S. Exaptation - A Missing Term in the Science of Form. **Paleobiology Society**, v. 8, n. 81, p. 4–15, 1982.

GRAY, M. W. Mitochondrial Evolution. **Science**, v. 283, n. 5407, p. 1476–1481, 5 mar. 1999.

GREER, E. L. *et al.* Transgenerational epigenetic inheritance of longevity in *Caenorhabditis elegans*. **Nature**, v. 479, n. 7373, p. 365–371, 19 nov. 2011.

GREGORY, T. R. **The evolution of the genome.** [s.l.] Elsevier Academic, 2005.

GRIFFITH, J. S. Nature of the Scrapie Agent: Self-replication and Scrapie. **Nature**, v. 215, n. 5105, p. 1043–1044, 2 set. 1967.

GRIFFITHS, A. J. F. *et al.* **Introdução à genética.** Tradução Paulo Armando Motta. 7. ed. Rio de Janeiro: [s.n.], v. 1

GUERRERO, C. V. Edición génica en humanos. 2018.

GUIMARÃES, C. A política externa dos Estados Unidos: da primazia ao extremismo. **Estudos Avançados**, v. 16, n. 46, p. 53–67, dez. 2002.

GYLLENSTEN, U. *et al.* Paternal inheritance of mitochondrial DNA in mice. **Nature**, v. 352, n. 6332, p. 255–257, 18 jul. 1991.

HACEIN-BEY-ABINA, S. *et al.* Sustained Correction of X-Linked Severe Combined Immunodeficiency by ex Vivo Gene Therapy. **New England Journal of Medicine**, v. 346, n. 16, p. 1185–1193, 18 abr. 2002.

\_\_\_\_\_. A Serious Adverse Event after Successful Gene Therapy for X-Linked Severe Combined Immunodeficiency. **New England Journal of Medicine**, v. 348, n. 3, p. 255–256, 16 jan. 2003.

HAFT, D. H. *et al.* A guild of 45 CRISPR-associated (Cas) protein families and multiple CRISPR/cas subtypes exist in prokaryotic genomes. **PLoS Computational Biology**, v. 1, n. 6, p. 0474–0483, 2005.

HAITES, N.; LOVELL-BADGE, R. Scientific review of the safety and efficacy of methods to avoid mitochondrial disease through assisted conception. **Review Literature And Arts Of The Americas**, n. April, p. 45, 2011.

HAMMOND, A. *et al.* A CRISPR-Cas9 gene drive system targeting female reproduction in the malaria mosquito vector *Anopheles gambiae*. **Nature Biotechnology**, 2016.

HARRISON, M. M. *et al.* A CRISPR view of development. **Genes & Development**, v. 28, n. 17, p. 1859–1872, 1 set. 2014.

HAYDEN, E. C. Tomorrow's children. **Nature**, v. 530, n. 7591, p. 402–405, 2016.

HEBMÜLLER, P. **Pesquisadores discutem ganhos e riscos da alteração do DNA humano.** Disponível em: <<http://www5.usp.br/90912/pesquisadores?discutem?ganhos?e?riscos?da?alteracao?do?dna?humano/>>.

HEITMAN, E.; SAWYER, K.; COLLINS, J. P. Gene Drives on the Horizon. **Applied Biosafety**, v. 21, n. 4, p. 173–176, 4 dez. 2016.

HESS, J. E. *et al.* Genetic basis of adult migration timing in anadromous steelhead discovered through multivariate association testing. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 283, n. 1830, p. 20153064, 11 maio 2016.

HSU, P. D.; LANDER, E. S.; ZHANG, F. Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. **Cell**, v. 157, n. 6, p. 1262–78, 5 jun. 2014.

HUMAN RIGHTS COUNCIL. **Annual report of the Special Representative of the Secretary-General for Children and Armed Conflict.** [s.l.: s.n.]. Disponível em: <[file:///C:/Arquivos de trabalho/Mestrado PUCPR Bioética/Dissertação/Bibliografia/ONU/G1529272.pdf](file:///C:/Arquivos%20de%20trabalho/Mestrado%20PUCPR/Bioética/Dissertação/Bibliografia/ONU/G1529272.pdf)>. Acesso em: 6 fev. 2018.

IBC - UNESCO. **Report of the IBC on updating its reflection on the Human Genome and Human Rights - 2015.** Paris: [s.n.]. Disponível em: <<http://unesdoc.unesco.org/images/0023/002332/233258e.pdf>>. Acesso em: 20 set. 2018.

ICGC. **International Cancer Genome Consortium - ICGC.** Disponível em: <<https://icgc.org/>>. Acesso em: 8 ago. 2018.

IHEC. **International Human Epigenome Consortium - IHEC.** Disponível em: <<http://ihec-epigenomes.org/about/ihec-countries/>>. Acesso em: 8 ago. 2018.

ISHINO, Y. *et al.* **Nucleotide Sequence of the iap Gene, Responsible for Alkaline Phosphatase Isozyme Conversion in Escherichia coli, and Identification of the Gene Product**JOURNAL OF BACTERIOLOGY. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC213968/pdf/jbacter00202-0107.pdf>>. Acesso em: 22 ago. 2018.

JABLONKA, E. **Epigenetics in Evolution with Dr Eva Jablonka**, 2011. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=o7ckZ7SmfhE>>. Acesso em: 2 fev. 2018

\_\_\_\_\_. The evolutionary implications of epigenetic inheritance. **Interface Focus**, v. 7, n. 5, p. 20160135, 6 out. 2017.

JABLONKA, E.; LAMB, M. J. The inheritance of acquired epigenetic variations. **Journal of Theoretical Biology**, v. 139, n. 1, p. 69–83, 10 jul. 1989.

JINEK, M. *et al.* A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. **Science**, v. 337, n. 6096, p. 816–821, 17 ago. 2012.

JOHANNES, F. *et al.* Assessing the Impact of Transgenerational Epigenetic Variation on Complex Traits. **PLoS Genet**, v. 5, n. 6, p. 1000530, 2009.

JONAS, H. **O PRINCÍPIO RESPONSABILIDADE - Ensaio de uma ética para a civilização tecnológica**. [s.l.] Contraponto, 2006.

KESSELRING, T. O conceito de Natureza na História do Pensamento Ocidental. **Episteme**, v. 785, n. 11, p. 153–172, dez. 2000.

KHALILI, K. *et al.* Genome editing strategies: potential tools for eradicating HIV-1/AIDS. **Journal of neurovirology**, v. 21, n. 3, p. 310–21, jun. 2015.

KOMOR, A. C. *et al.* Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage HHS Public Access. **Nature**, v. 533, n. 7603, p. 420–424, 2016.

KOONIN, E. V; MAKAROVA, K. S. CRISPR-Cas: evolution of an RNA-based adaptive immunity system in prokaryotes. **RNA biology**, v. 10, n. 5, p. 679–86, maio 2013.

KOSICKI, M.; TOMBERG, K.; BRADLEY, A. Repair of double-strand breaks induced by CRISPR–Cas9 leads to large deletions and complex rearrangements. **Nature Biotechnology**, v. 36, n. 8, p. 765–771, 16 jul. 2018.

KUIKEN, T. Governance: Learn from DIY biologists. **Nature**, v. 531, n. 7593, p. 167–168, 9 mar. 2016.

LACADENA, J.-R. Edición genómica: ciencia y ética. **Revista Iberoamericana de Bioética**, v. 0, n. 3, p. 1, 2017.

LAFONTAINE, J. S.; FATHE, K.; SMYTH, H. D. C. Delivery and therapeutic applications of gene editing technologies ZFNs, TALENs, and CRISPR/Cas9. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 494, n. 1, p. 180–194, 15 out. 2015.

LANDER, E. S. The Heroes of CRISPR. **Cell**, v. 164, n. 1–2, p. 18–28, 14 jan. 2016.

LANDER, N.; CHIURILLO, M. A.; DOCAMPO, R. Genome Editing by CRISPR/Cas9: A Game Change in the Genetic Manipulation of Protists. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 63, n. 5, p. 679–690, 1 set. 2016.

LANGELIER, C. A molecular warning system for invasive pneumococcus. **Science Translational Medicine**, v. 10, n. 446, p. eaau0470, 20 jun. 2018.

LANGIN, K. Salmon spawn fierce debate over protecting endangered species, thanks

to a single gene. **Science**, 4 maio 2018.

LANPHIER, E. *et al.* Don't edit the human germ line. **Nature**, v. 519, n. March, p. 410–411, 2015.

LEAKEY, R. **A Origem da Espécie Humana**. Tradução Alexandre Trot. 1. ed. Rio de Janeiro: Editora Rocco Ltda, 1997. v. 1

LEDFORD, H. CRISPR, the disruptor. **Nature**, v. 522, n. 7554, p. 20–24, 2015a.

\_\_\_\_\_. Where in the world could the first CRISPR baby be born? **Nature**, v. 526, n. 7573, p. 310–311, 2015b.

\_\_\_\_\_. CRISPR: gene editing is just the beginning. **Nature**, v. 531, n. 7593, p. 156–159, 7 mar. 2016a.

\_\_\_\_\_. Beyond CRISPR: A guide to the many other ways to edit a genome. **Nature**, v. 536, n. 7615, p. 136–137, 8 ago. 2016b.

LEE, R. C.; FEINBAUM, R. L.; AMBROST, V. **The C. elegans Heterochronic Gene lin-4 Encodes Small RNAs with Antisense Complementarity to  $\text{lin-14}$  Cell**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <[https://www.cell.com/cell/pdf/0092-8674\(93\)90529-Y.pdf?\\_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2F009286749390529Y%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/cell/pdf/0092-8674(93)90529-Y.pdf?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2F009286749390529Y%3Fshowall%3Dtrue)>. Acesso em: 1 ago. 2018.

LEITE, M. Retórica determinista no genoma humano. **Scientiae Studia - Revista Latino-Americana de Filosofia e História da Ciência**, v. 4, p. 421–452, 2006.

LEWONTIN, R. C. In the Beginning Was the Word. **Science**, v. 291, n. 5507, p. 1263–1264, 16 fev. 2001.

LI, N. *et al.* Interaction Between Nano-Anatase TiO<sub>2</sub> and Liver DNA from Mice In Vivo. **Nanoscale Research Letters**, v. 5, n. 1, p. 108–115, 13 jan. 2010.

LIANG, P. *et al.* CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes. **Protein & Cell**, v. 6, n. 5, p. 363–372, 18 maio 2015a.

\_\_\_\_\_. CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes. **Protein & Cell**, v. 6, n. 5, p. 363–372, 18 maio 2015b.

\_\_\_\_\_. Correction of  $\beta$ -thalassemia mutant by base editor in human embryos. **Protein & Cell**, v. 8, n. 11, p. 811–822, 23 nov. 2017.

LISTIK, E.; CARMO, ; VIEGAS, A. C. AS CARACTERÍSTICAS DOS MECANISMOS E SISTEMAS DE EDIÇÃO GENÔMICA. **Revista Acadêmica Oswaldo Cruz**, 2017.

LISTON, C. An epigenetic target for autism. **Science Translational Medicine**, v. 10, n. 437, p. eaat4476, 18 abr. 2018.

LOURENÇO, A. M. M. G. **IMUNIDADE CELULAR: CARACTERIZAÇÃO DAS PROTEÍNAS CELULARES QUE INIBEM A INFECÇÃO VIRAL**. [s.l.] INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ, 2016.

LOURO, M. H. D. L. G. **NANOMATERIAIS MANUFATURADOS: AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA ATRAVÉS DA CARACTERIZAÇÃO DOS SEUS EFEITOS**



**GENÉTICOS.** [s.l.] Universidade Nova de Lisboa, 2013.

MA, H. *et al.* Correction of a pathogenic gene mutation in human embryos. **Nature**, v. 548, n. 7668, p. 413–419, 2 ago. 2017.

MADDALO, D. *et al.* In vivo engineering of oncogenic chromosomal rearrangements with the CRISPR/Cas9 system. **Nature**, v. 516, n. 7531, p. 423–7, 18 dez. 2014.

MAEDER, M. L.; GERSBACH, C. A. *Genome-editing Technologies for Gene and Cell Therapy.* 2016.

MAIA, A. C. DO A. **CRIACIONISMO E O CONCEITO DE DESIGN INTELIGENTE.** Disponível em: <<https://pt.scribd.com/document/94835997/Criacionismo-Design-Antonio-Maia>>.

MAKAROVA, K. S. *et al.* A putative RNA-interference-based immune system in prokaryotes: computational analysis of the predicted enzymatic machinery, functional analogies with eukaryotic RNAi, and hypothetical mechanisms of action. **Biology direct**, v. 1, p. 7, 16 mar. 2006.

MARI-ALEXANDRE, J. *et al.* Translating cancer epigenomics into the clinic: focus on lung cancer. **Translational research: the journal of laboratory and clinical medicine**, v. 189, p. 76–92, 1 nov. 2017.

MÁRQUEZ, G. G. El cataclismo de Damocles. **Conferencia de Ixtapa, México, 1986,** 1986.

MARTINS, A. S. Tipos de Mutações. *Mutações e Oncogénese.* p. 1–8, 2016.

MATHEWS, D. J. H. *et al.* CRISPR: A path through the thicket. **Nature**, v. 527, n. 7577, p. 159–161, 2015.

MATSUYAMA, B. Y. *et al.* Mechanistic insights into c-di-GMP–dependent control of the biofilm regulator FleQ from *Pseudomonas aeruginosa*. **PNAS**, 2015.

MAXMEN, A. ‘Dark matter’ DNA influences brain development. **Nature**, 18 jan. 2018.

MAYR, E. *A Teoria Sintética da Evolução - A Segunda Revolução Darwiniana.* **Faculdade de Medicina - Universidade do Chile,** 1993.

MCFARLAND, R.; TAYLOR, R. W.; TURNBULL, D. M. The neurology of mitochondrial DNA disease. **The Lancet Neurology**, v. 1, n. 6, p. 343–351, out. 2002.

MENDES, G. **STF - MEDIDA CAUTELAR EM AÇÃO CAUTELAR : AC 2436 PR.** Disponível em: <<https://stf.jusbrasil.com.br/jurisprudencia/19135506/medida-cautelar-em-acao-cautelar-ac-2436-pr-stf>>. Acesso em: 21 set. 2018.

MINISTÉRIO DA DEFESA - BRASIL. **PORTARIA NORMATIVA Nº 585/MD, DE 7 DE MARÇO DE 2013** Brasília O MINISTRO DE ESTADO DA DEFESA, no uso das atribuições que lhe confere o art. 87, parágrafo único, incisos I e II, da Constituição Federal, tendo em vista o disposto no Decreto nº 7.364, de 23 de novembro de 2010, e considerando que os recentes avanços, , 2013. Disponível em: <[http://www.ime.eb.br/arquivos/teses/se4/mec2010/Pedro\\_B\\_Dissert.pdf](http://www.ime.eb.br/arquivos/teses/se4/mec2010/Pedro_B_Dissert.pdf)>

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Diretrizes gerais para o trabalho em contenção com**

**agentes biológicos**. 3. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

MINNICH, S. A.; MEYER, S. C. Genetic analysis of coordinate flagellar and type III regulatory circuits in pathogenic bacteria. **Center for Science and Culture - Discovery Institute**, p. 10, 2004.

MO, O. CRISPR-Cas9 Human Genome Editing: Challenges, Ethical Concerns and Implications. **Journal of Clinical Research & Bioethics**, v. 06, n. 06, p. 5–7, 2015.

MOLOGNONI, F. **EPIGENÉTICA**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <[https://www.ime.usp.br/posbioinfo/cv2012/epigenetica\\_FernandaMolognoni.pdf](https://www.ime.usp.br/posbioinfo/cv2012/epigenetica_FernandaMolognoni.pdf)>.

MOON, P. Pesquisa analisa dispersão de parasitas por aves nas Américas. **Agência FAPESP**, p. 2–4, 2017.

MORA, C. *et al.* How Many Species Are There on Earth and in the Ocean? **PLoS Biology**, v. 9, n. 8, p. e1001127, 23 ago. 2011.

MORIN, E. Teses sobre a ciência e a ética. *In*: **Ciência com consciência**. [s.l.: s.n.]. p. 125–133.

MOURA, Q. *et al.* Draft genome sequence of a multidrug-resistant CMY-2-producing *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Minnesota ST3088 isolated from chicken meat. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 8, p. 67–69, mar. 2017.

MULLER, H. R.; PRADO, K. B. Epigenética: um novo campo da genética. **RUBS**, n. 3, p. 61–69, 2008.

MULLIN, E. **CRISPR in 2018: Coming to a Human Near You - MIT Technology Review**. Disponível em: <<https://www.technologyreview.com/s/609722/crispr-in-2018-coming-to-a-human-near-you/>>. Acesso em: 27 abr. 2018.

NABAIS, A. T. G. **TÉCNICAS DE EDIÇÃO DE GENOMA COMO ABORDAGEM PROMISSORA NA TERAPIA GÊNICA**. [s.l.] Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, 2015.

NASCIMENTO, T. *et al.* International high-risk clones of *Klebsiella pneumoniae* KPC-2/CC258 and *Escherichia coli* CTX-M-15/CC10 in urban lake waters. **Science of The Total Environment**, v. 598, p. 910–915, nov. 2017.

NASSEH, I. E. *et al.* Doenças Mitocondriais. **Rev. Neurociências**, v. 9, n. 2, p. 60–69, 2001.

NETO, J. R. T. DE V. **Introdução a Biologia Molecular Objetivos**, 2012.

NIHONGAKI, Y. *et al.* CRISPR-Cas9-based Photoactivatable Transcription System. **Chemistry & Biology**, v. 22, n. 2, p. 169–174, 19 fev. 2015.

NIU, Y. *et al.* Generation of Gene-Modified *Cynomolgus* Monkey via Cas9/RNA-Mediated Gene Targeting in One-Cell Embryos. 2014.

O'GEEN, H. *et al.* dCas9-based epigenome editing suggests acquisition of histone methylation is not sufficient for target gene repression. **Nucleic Acids Research**, v. 45, n. 17, p. 9901–9916, 29 set. 2017.

OEA-CORTE INTERAMERICANA DE DIREITOS HUMANOS. **OEA-CIDH - Caso Gomes Lund e outros - Senteça de 24/12/2010**, 2010.

OEA. **Pacto de São José da Costa Rica**, 1967.

OEA - COMISSÃO INTERAMERICANA DE DIREITOS HUMANOS. **Caso 11.552 - Julia Gomes Lund e outros (Guerrilha do Araguaia)** Washington, 2009. Disponível em: <[http://cevige.com.br/wp-content/uploads/2017/09/memorial-\\_audiencia\\_publica-CIDH\\_162\\_periodo\\_de\\_sessoes.pdf](http://cevige.com.br/wp-content/uploads/2017/09/memorial-_audiencia_publica-CIDH_162_periodo_de_sessoes.pdf)>

OFFICE, U. S. P. A. T. **Patent Interference No. 106,048 (DK)**EUA, 2017. Disponível em: <<https://www.washingtonpost.com/news/speaking-of-science/wp-content/uploads/sites/36/2017/02/DecisionsOnMotions.pdf>>. Acesso em: 27 fev. 2018

OHNO, S. **Ohno “Junk” DNA paper in full, 1972**, 2012. Disponível em: <<http://www.junkdna.com/ohno.html>>. Acesso em: 29 out. 2018

OJOPI, E. P. B. *et al.* O genoma humano e as perspectivas para o estudo da esquizofrenia. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 31, n. 11, p. 9–18, 2004.

OLIVEIRA, A. A. S. DE *et al.* **Anais: XII Congresso Brasileiro de Bioética [e] IV Congresso Brasileiro de Bioética Clínica: liberdades e responsabilidades: 26 a 29 de setembro de 2017 [recurso eletrônico]**. Recife: [s.n.].

OLIVEIRA, M. N. V. DE. **Archaea como componentes da microbiota endofítica de frutos do cafeeiro**. [s.l.] Universidade Federal de Viçosa, 2009.

OMS. **WHO human health risk assessment toolkit: chemical hazards - IPCS project on the Harmonization of Approaches to the Assessment of Risk from Exposure to Chemicals**. Geneve: World Health Organization, 2010.

\_\_\_\_\_. **WHO SECRETARIAT RESPONSE TO THE REPORT OF THE EBOLA INTERIM ASSESSMENT PANEL**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/who-response-to-ebola-report.pdf?ua=1>>. Acesso em: 26 fev. 2018.

ONU. **Declaração Universal dos Direitos Humanos**, 1948. Disponível em: <<http://www.onu.org.br/img/2014/09/DUDH.pdf>>. Acesso em: 26 fev. 2018

\_\_\_\_\_. **Tráfico humano é um dos principais negócios ilegais na Europa**. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/trafico-humano-e-um-dos-principais-negocios-ilegais-na-europa/>>. Acesso em: 3 jun. 2016.

\_\_\_\_\_. **No primeiro Dia Internacional contra o Tráfico de Pessoas, ONU pede fim da exploração de vidas humanas \_ ONU Brasil.pdf**. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/apos-o-surto-de-ebola-especialistas-pedem-divisao-dedicada-na-oms-para-responder-a-emergencias/>>. Acesso em: 3 jun. 2016.

\_\_\_\_\_. **After Ebola outbreak, expert panel urges ‘unified entity’ within UN health agency for emergency response**. Disponível em: <<https://news.un.org/en/story/2015/05/498372-after-ebola-outbreak-expert-panel-urges-unified-entity-within-un-health-agency#.VVlhkY5Vikp>>. Acesso em: 26 fev. 2018a.

\_\_\_\_. **After missteps on Ebola, WHO must re-establish itself as “guardian of global public health”**. Disponível em: <<https://news.un.org/en/story/2015/07/503612-after-missteps-ebola-who-must-re-establish-itself-guardian-global-public-health#.VZwghhtVikp>>. Acesso em: 26 fev. 2018b.

\_\_\_\_. **Assembleia Geral da ONU proclama Década de Ação sobre**. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/assembleia-geral-da-onu-proclama-decada-de-acao-sobre-nutricao-2016-2025/>>. Acesso em: 21 jun. 2016a.

\_\_\_\_. **Em visita à ONU , Papa Francisco pede maior compromisso com a luta por Fome Zero**. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/em-visita-a-onu-papa-francisco-pede-maior-compromisso-com-a-luta-por-fome-zero/>>. Acesso em: 21 jun. 2016b.

\_\_\_\_. **Em Dia Mundial , ONU lembra que milhões de mulheres , homens e crianças são traficados por dinheiro**. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/em-dia-mundial-onu-lembra-que-milhoes-de-mulheres-homens-e-criancas-sao-trafficados-por-dinheiro/>>. Acesso em: 3 jun. 2016c.

\_\_\_\_. **ONU : paralisia política agrava crise de refugiados e prejudica trabalho de organizações humanitárias**. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/onu-paralisia-politica-agrava-crise-de-refugiados-e-prejudica-trabalho-de-organizacoes-humanitarias/>>. Acesso em: 21 jun. 2016d.

ONU - ACNUR. **Trends at a Glance - 2015 in Reiew - Global leader on statistics on refugees**. Disponível em: <<http://www.unhcr.org/576408cd7>>. Acesso em: 6 fev. 2018.

\_\_\_\_. **ACNUR : Deslocamento forçado atinge recorde global e afeta 65,3 milhões de pessoas**. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/acnur-deslocamento-forcado-atinge-recorde-global-e-afeta-653-milhoes-de-pessoas/>>. Acesso em: 21 jun. 2016.

ONU - BRASIL. **Tráfico humano é um dos principais negócios ilegais na Europa**. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/trafico-humano-e-um-dos-principais-negocios-ilegais-na-europa/>>. Acesso em: 3 jun. 2016.

\_\_\_\_. **Formas de erradicar a tortura e os maus tratos na América Latina e no Caribe em discussão em Santiago**. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/formas-de-erradicar-a-tortura-e-os-maus-tratos-na-america-latina-e-no-caribe-em-discussao-em-santiago/>>. Acesso em: 1 jun. 2016.

\_\_\_\_. **Ebola : ONU declara que surto ‘ sem precedentes ’ é uma ameaça à paz e à segurança internacionais**. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/ebola-onu-declara-que-surto-sem-precedentes-e-uma-ameaca-a-paz-e-a-seguranca-internacionais-2/>>. Acesso em: 1 jun. 2016.

\_\_\_\_. **Duas vacinas contra o ebola mostram ‘ segurança aceitável ’, anuncia OMS**. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/dois-vacinas-contra-o-ebola-mostram-seguranca-aceitavel-anuncia-oms/>>. Acesso em: 1 jun. 2016a.

\_\_\_\_. **OMS deve restabelecer seu papel na saúde pública global após atrasos na resposta ao ebola, afirma relatório**. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/oms-deve-restabelecer-seu-papel-na-saude-publica-global-apos-atrasos-na-resposta->

ebola/>. Acesso em: 1 jun. 2016b.

\_\_\_\_. **Após surto de ebola , especialistas pedem departamento especial na OMS para emergências.** Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/apos-o-surto-de-ebola-especialistas-pedem-divisao-dedicada-na-oms-para-responder-a-emergencias/>>.

\_\_\_\_. **UNAIDS : 17 milhões de pessoas vivendo com HIV tiveram acesso a tratamento antirretroviral em 2015 Apesar de avanços , prevenção do HIV está perdendo.** Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/unaid-17-milhoes-de-pessoas-vivendo-com-hiv-tiveram-acesso-a-tratamento-antirretroviral-em-2015/>>.

\_\_\_\_. **CEPAL pede ‘ equação renovada ’ entre Estado , mercado e sociedade.** Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/cepal-pede-equacao-renovada-entre-estado-mercado-e-sociedade/>>. Acesso em: 1 jun. 2016b.

\_\_\_\_. **ONU alerta para aumento de mortes de refugiados e migrantes no Mediterrâneo.** Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/onu-alerta-para-aumento-de-mortes-de-refugiados-e-migrantes-no-mediterraneo/>>. Acesso em: 1 jun. 2016c.

\_\_\_\_. **ONU alerta : 230 milhões de crianças vivem em áreas de conflito armado em todo o mundo.** Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/onu-alerta-230-milhoes-de-criancas-vivem-em-areas-de-conflito-armado-pelo-mundo/>>. Acesso em: 1 jun. 2016d.

\_\_\_\_. **Quatro escolas ou hospitais são atacados ou ocupados por dia em zonas de crise , alerta.** Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/quatro-escolas-ou-hospitais-sao-atacados-ou-ocupados-por-dia-em-zonas-de-crise-alerta-unicef/>>. Acesso em: 1 jun. 2016e.

\_\_\_\_. **Brasil : a cada 6 horas uma mulher é assassinada por um agressor conhecido , alerta ONU Mulheres.** Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/brasil-a-cada-6-horas-uma-mulher-e-assassinada-por-um-agressor-conhecido-alerta-onu-mulheres/>>. Acesso em: 1 jun. 2016f.

\_\_\_\_. **Brasil : UNICEF pede ‘ tolerância zero ’ à violência contra crianças e adolescentes.** Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/brasil-unicef-pede-tolerancia-zero-a-violencia-contra-criancas-e-adolescentes/>>.

\_\_\_\_. **OMS envia especialistas para evitar retorno do ebola na Guiné.** Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/oms-envia-especialistas-para-evitar-retorno-do-ebola-na-guine/>>. Acesso em: 1 jun. 2016h.

\_\_\_\_. **OMS reporta novo caso de ebola na Libéria - Guiné adota vacina experimental.** Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/oms-reporta-novo-caso-de-ebola-na-liberia-guine-adota-vacina-experimental/>>.

\_\_\_\_. **Assembleia Mundial de Saúde aprova novo programa para emergências.** Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/assembleia-mundial-de-saude-aprova-novo-programa-para-emergencias/>>.

\_\_\_\_. **Assembleia Ambiental da ONU aprova resoluções para impulsionar desenvolvimento sustentável e acordo do clima.** Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/assembleia-ambiental-da-onu-aprova-resolucoes-para-impulsionar-desenvolvimento-sustentavel-e-acordo-do-clima/>>.

\_\_\_\_\_. **Vamos levar os produtos químicos a sério, nossas vidas dependem disso.** Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/artigo-vamos-levar-os-produtos-quimicos-a-serio-nossas-vidas-dependem-disso/>>. Acesso em: 7 jun. 2018.

\_\_\_\_\_. **Pecuária e indústria química trazem riscos de contaminação dos solos, alerta FAO.** Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/pecuaria-e-industria-quimica-trazem-riscos-de-contaminacao-dos-solos-alerta-fao/>>. Acesso em: 7 jun. 2018.

ONU - UNESCO. **UNESCO panel of experts calls for ban on “editing” of human DNA to avoid unethical tampering with hereditary traits.** Disponível em: <<https://en.unesco.org/news/unesco-panel-experts-calls-ban-editing-human-dna-avoid-unethical-tampering-hereditary-traits>>. Acesso em: 26 fev. 2018a.

\_\_\_\_\_. **Vigésima Segunda Sessão e Nona Sessão da COMEST.** Disponível em: <<http://www.unesco.org/new/en/social-and-human-sciences/themes/bioethics/international-bioethics-committee/ibc-sessions/twenty-second-session-and-ninth-session-of-comest/>>. Acesso em: 20 set. 2018b.

ONU - UNODC. **Trafficking in Persons to Europe for sexual exploitation.** [s.l.: s.n.]. Disponível em: <[http://www.unodc.org/documents/publications/TiP\\_Europe\\_EN\\_LORES.pdf](http://www.unodc.org/documents/publications/TiP_Europe_EN_LORES.pdf)>. Acesso em: 6 fev. 2018.

\_\_\_\_\_. **GLOBAL REPORT ON TRAFFICKING IN PERSONS.** [s.l.: s.n.]. Disponível em: <[http://www.unodc.org/documents/lpo-brazil/Topics\\_TIP/Publicacoes/GLOTIP\\_2014\\_full\\_report.pdf](http://www.unodc.org/documents/lpo-brazil/Topics_TIP/Publicacoes/GLOTIP_2014_full_report.pdf)>. Acesso em: 6 fev. 2018.

ONU MEIO AMBIENTE. **Poluição provoca evolução de bactérias resistentes a remédios, revela ONU Meio Ambiente.** Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/poluicao-provoca-evolucao-de-bacterias-resistentes-a-remedios-revela-onu-meio-ambiente/>>. Acesso em: 7 jun. 2018.

OPAS/OMS. **OMS: câncer mata 8,8 milhões de pessoas anualmente no mundo.** Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/oms-cancer-mata-88-milhoes-de-pessoas-anualmente-no-mundo/>>. Acesso em: 21 maio. 2018a.

\_\_\_\_\_. **OMS publica lista inédita de bactérias resistentes a antibióticos.** Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/oms-publica-lista-inedita-de-bacterias-resistentes-a-antibioticos/>>. Acesso em: 7 jun. 2018b.

OPAS - OMS. **OMS divulga lista de doenças prioritárias para pesquisa e desenvolvimento em 2018.** Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/oms-divulga-lista-de-doencas-prioritarias-para-pesquisa-e-desenvolvimento-em-2018/>>. Acesso em: 22 maio. 2018.

ORMOND, K. E. *et al.* Human Germline Genome Editing. **American journal of human genetics**, v. 101, n. 2, p. 167–176, 3 ago. 2017.

PALEY, W. **Teología Natural: ó demonstracion de la existência y de los atributos de la divindad: fundada en los denómenos de la naturaleza.** Tradução Joaqui Lorenzo Villanueva Estengo. Londres: R. Ackermann, 1825.

PANEL OF OUTSIDE INDEPENDENT EXPERTS - OMS. **Report of the Ebola**

**Interim Assessment Panel.** [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/report-by-panel.pdf?ua=1>>. Acesso em: 26 fev. 2018.

PELLEGRINO, E. D. Intersections of Western biomedical ethics and world culture: problematic and possibility. **Cambridge quarterly of healthcare ethics : CQ : the international journal of healthcare ethics committees**, v. 1, n. 3, p. 191–6, 1992.

PENNISI, E. Trio of genes supercharged human brain evolution. **Science**, 31 maio 2018.

PERCHARDE, M. *et al.* A LINE1-Nucleolin Partnership Regulates Early Development and ESC Identity. **Cell**, jun. 2018.

PESQUISA FAPESP. As bactérias da vida moderna. **Pesquisa Fapesp**, p. 43–45, 2002.

PIERRE-SIMON, L. **Essai philosophique sur les probabilités**. 6. ed. Paris: [s.n.].

PORTEUS, M. H.; DANN, C. T. Genome Editing of the Germline: Broadening the Discussion. **Molecular Therapy**, v. 23, n. 6, p. 980–982, jun. 2015.

POTTER, V. R. **Bioética: ponte para o futuro**. Tradução Diego Carlos Zanella. 1. ed. São Paulo, Brasil: Edições Loyola Jesuítas, 2016.

\_\_\_\_\_. **Bioética Global: construindo a partir do legado de Leopold**. Tradução Cecília Camargo Bartalotti. São Paulo: [s.n.].

PRINCE, D. J. *et al.* The evolutionary basis of premature migration in Pacific salmon highlights the utility of genomics for informing conservation. **Science Advances**, v. 3, n. 8, p. e1603198, 1 ago. 2017.

PRUSINER, S. B. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. **Science (New York, N.Y.)**, v. 216, n. 4542, p. 136–44, 9 abr. 1982.

QIN, P. *et al.* Live cell imaging of low- and non-repetitive chromosome loci using CRISPR-Cas9. **Nature Communications**, v. 8, p. 1–10, 2017.

REARDON, S. Global summit reveals divergent views on human gene editing. **Nature**, v. 528, n. 7581, p. 173–173, 8 dez. 2015.

\_\_\_\_\_. Welcome to the CRISPR zoo. **Nature**, v. 531, n. 7593, p. 160–163, 9 mar. 2016.

REGALADO, A. **Indústria Pede Moratória para a Edição Genética**. Disponível em: <[http://www.technologyreview.com.br/read\\_article.aspx?id=47125](http://www.technologyreview.com.br/read_article.aspx?id=47125)>. Acesso em: 2 fev. 2018.

REVISTA FAPESP. Uma longa história de horrores. **Revista FAPESP**, v. 69, 2001.

REYES, A. P.; LANNER, F. Towards a CRISPR view of early human development: applications, limitations and ethical concerns of genome editing in human embryos. 2017.

RIBEIRO, S. P. *et al.* A Vaccine Encoding Conserved Promiscuous HIV CD4 Epitopes Induces Broad T Cell Responses in Mice Transgenic to Multiple Common HLA Class

II Molecules. **PLoS ONE**, v. 5, n. 6, p. e11072, 11 jun. 2010.

RICARTE FILHO, J. C. M.; KIMURA, E. T. MicroRNAs: Nova Classe de Reguladores Gênicos Envolvidos na Função Endócrina e Câncer. **Arq Bras Endocrinol Metab**, 2006.

RICCI, C. G. **A, B e Z-DNA: Caracterização Conformacional e Importância Biológica**. [s.l.: s.n.].

RICKLEFS, R. E. *et al.* Avian migration and the distribution of malaria parasites in New World passerine birds. **Journal of Biogeography**, v. 44, n. 5, p. 1113–1123, maio 2017.

ROADMAP EPIGENOMICS PROJECT. **Roadmap Epigenomics Project**. Disponível em: <<http://www.roadmapepigenomics.org/>>. Acesso em: 8 ago. 2018.

RUTGERS, T. R. M. **Evolução, Ciência e Sociedade**. Tradução Nicole S. Loghin-Grosso. 1. ed. São Paulo: Sociedade Brasileira de Genética, 2002.

SALMAN, A. K. D. **Conceitos básicos de genética de populações**. Porto Velho: [s.n.].

SALVATO, F.; LABATE, C. A. **Epigenéticausp - LGN 5799 – Seminários em Genética e Melhoramento de Plantas**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/departamentos/lgn/semina.php>>.

SANCHES, M. A. **Brincando de Deus - bioética e as marcas sociais da genética**. [s.l.: s.n.].

SANDER, J. D.; JOUNG, J. K. CRISPR-Cas systems for editing, regulating and targeting genomes. **Nature biotechnology**, v. 32, n. 4, p. 347–55, abr. 2014.

SANGIONI, L. A. *et al.* Princípios de biossegurança aplicados aos laboratórios de ensino universitário de microbiologia e parasitologia. **Ciência Rural**, v. 43, n. 1, p. 91–99, jan. 2013.

SANTOS, V. DOS. **O que são plasmídeos? - Brasil Escola**. Disponível em: <<https://brasilecola.uol.com.br/o-que-e/biologia/o-que-sao-plasmideos.htm>>. Acesso em: 4 jul. 2018.

SAVI C, N. S.; SCHWANK ZURICH, G. Advances in therapeutic CRISPR/Cas9 genome editing. **Translational Research**, v. 168, p. 15–21, 2016.

SCHRODINGER, E. **What is life?** Reino Unido: [s.n.].

SCHWEITZER, A. **An Anthology**. 1. ed. Boston: Beacon, 1947.

SENDER, R.; FUCHS, S.; MILO, R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. **PLOS Biology**, v. 14, n. 8, p. e1002533, 19 ago. 2016.

SEUÁNEZ, H. N. **The Phylogeny of Human Chromosomes**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1979. v. 1

SHEN, H. First monkeys with customized mutations born. **Nature**, 30 jan. 2014.



SHERKOW, J. S. Law, history and lessons in the CRISPR patent conflict. **Nature Biotechnology**, v. 33, n. 3, p. 256–257, 1 mar. 2015.

SILAS, S. *et al.* Direct CRISPR spacer acquisition from RNA by a natural reverse transcriptase-Cas1 fusion protein. **Science**, v. 351, n. 6276, 2016.

SILVA, G. *et al.* Meganucleases and other tools for targeted genome engineering: perspectives and challenges for gene therapy. **Current gene therapy**, v. 11, n. 1, p. 11–27, fev. 2011.

SILVA, V.; MEDEIROS, J. D. **Genética Bacteriana** Universidade Federal de Juiz de Fora - Laboratório de Microbiologia. **Anais...** Juiz de Fora: 2018 Disponível em: <<http://www.ufjf.br/microbiologia/files/2013/05/Genética-Bacteriana-1.pdf>>. Acesso em: 31 jul. 2018

SILVEIRA PRADO, E. A.; PÉREZ AMORES, A. Historia de las armas biológicas y el bioterrorismo. **REDVET - Revista Electrónica de Veterinaria**, v. 11, núm. 3, p. 10 Málaga, 2010.

SIMÃO-SILVA, D. P. *et al.* **Terapia Gênica hereditária: igualdades e desigualdades na sociedade futura**. 1. ed. Curitiba: CRV, 2017. v. 5

SINGH, N. *et al.* NanoGenotoxicology: The DNA damaging potential of engineered nanomaterials. **Biomaterials**, v. 30, n. 23–24, p. 3891–3914, ago. 2009.

SMEETS, H. J. M. *et al.* Preventing the transmission of mitochondrial DNA disorders using prenatal or preimplantation genetic diagnosis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1350, n. 1, p. 29–36, 2015.

SOUZA, C. F. M. DE. **Um estudo clínico, bioquímico, histoquímico e genético-molecular de pacientes com doenças do DNA mitocondrial**. [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

SOUZA, S. C. DE *et al.* Unlocking the bacterial and fungal communities assemblages of sugarcane microbiome. 2016.

STOKSTAD, E. European court ruling raises hurdles for CRISPR crops. **Science**, 25 jul. 2018.

Summary statement of the asilcmar conference on recombinant DNA molecules. **Asilomar Conference**, 1975.

SUTTER, P. DE. **The use of new genetic technologies in human beings - Doc. nº 14328 Report** Council of Europe - Parliamentary Assembly - Committee on Social Affairs, Health and Sustainable Development. Bélgica: [s.n.]. Disponível em: <<http://assembly.coe.int/nw/xml/XRef/Xref-XML2HTML-en.asp?fileid=23730&lang=en>>. Acesso em: 28 mar. 2018.

SZULWACH, K. E. *et al.* Cross talk between microRNA and epigenetic regulation in adult neurogenesis. **The Journal of cell biology**, v. 189, n. 1, p. 127–41, 5 abr. 2010.

SZULWACH, K. E. *et al.* Integrating 5-Hydroxymethylcytosine into the Epigenomic Landscape of Human Embryonic Stem Cells. **PLoS Genetics**, v. 7, n. 6, p. e1002154, 23 jun. 2011.

THE ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES *et al.* Genome editing in human cells – initial joint statement. **The Academy of Medical Sciences**, 2015.

THE HINXTON GROUP. Statement on Genome Editing Technologies and Human Germline Genetic Modification. 2015.

THOMPSON, T. Q. *et al.* Anthropogenic habitat alteration leads to rapid loss of adaptive variation and restoration potential in wild salmon populations. **bioRxiv**, 2018.

TOLEDO, K. **Vacina brasileira contra a Aids será testada em macacos**. Disponível em: <<http://agencia.fapesp.br/vacina-brasileira-contra-a-aids-sera-testada-em-macacos/17655/>>. Acesso em: 4 jul. 2018.

\_\_\_\_\_. Estudo desvenda evolução de moscas - varejeiras. **FAPESP**, p. 2–4, 2017a.

\_\_\_\_\_. Drogas que modulam a expressão gênica são testadas em modelo de diabetes. **Agência FAPESP**, p. 2–5, 2017b.

TOMOKO, O. Synonymous and nonsynonymous substitutions in mammalian genes and the nearly neutral theory. **Journal of Molecular Evolution**, v. 40, n. 1, p. 56–63, jan. 1995.

TOSI, G. *et al.* **Justiça de transição direito à justiça, à memória e à verdade**. João Pessoa: UFPR, 2015.

TURANO, H. *et al.* Presence of high-risk clones of OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* (ST79) and SPM-1-producing *Pseudomonas aeruginosa* (ST277) in environmental water samples in Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 86, n. 1, p. 80–82, 1 set. 2016.

UN ENVIRONMENT. **Frontiers 2017 - Emerging Issues Of Environmental Concern**. Nairobi: United Nations Environment Programme, 2017a.

\_\_\_\_\_. **Frontiers 2017: Emerging Issues of Environmental Concern**. Disponível em: <<https://www.unenvironment.org/resources/frontiers-2017-emerging-issues-environmental-concern>>. Acesso em: 11 jun. 2018b.

UNAIDS. **Global AIDS Update 2016**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <[http://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/global-AIDS-update-2016\\_en.pdf](http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/global-AIDS-update-2016_en.pdf)>. Acesso em: 6 fev. 2018.

UNESCO. **Declaração Universal sobre o Genoma Humano e os Direitos Humanos: da teoria à prática - 2001**, 2001. Disponível em: <<http://unesdoc.unesco.org/images/0012/001229/122990por.pdf>>. Acesso em: 26 fev. 2018

\_\_\_\_\_. **Declaração Internacional sobre os Dados Genéticos Humanos.**, 2004. Disponível em: <[www.unesco.org/shs/ethics](http://www.unesco.org/shs/ethics)>. Acesso em: 26 fev. 2018

\_\_\_\_\_. **Declaração Universal sobre Bioética e Direitos Humanos**, 2005a. Disponível em: <[unesdoc.unesco.org/images/0014/001461/146180por.pdf](http://unesdoc.unesco.org/images/0014/001461/146180por.pdf)>

\_\_\_\_\_. **Declaração Universal sobre Bioética e Direitos Humanos. O mundo da saúde**, 2005b.

UNODA - ONU. **Convention on the Prohibition of the Development, Production and Stockpiling of Bacteriological (Biological) and Toxin Weapons and on their Destruction**. Disponível em: <<https://www.un.org/disarmament/wmd/bio/>>. Acesso em: 11 set. 2018.

URNOV, F. D. *et al.* Genome editing with engineered zinc finger nucleases. **Nature Reviews Genetics**, v. 11, n. 9, p. 636–646, 1 set. 2010.

VALKIUNAS, G. **Avian Malaria Parasites and other haemosporidia**. Russian and French: [s.n.].

VASCONCELOS, M. J. V. DE; FIGUEIREDO, J. E. F. **Edição de genoma com nuclease “Zinc Finger”**. 1. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2016.

VASILEVA, E. A. *et al.* Genome-editing tools for stem cell biology. **Cell Death and Disease**, v. 6, 2015.

VASSENA, R. *et al.* Genome engineering through CRISPR/Cas9 technology in the human germline and pluripotent stem cells. **Human Reproduction Update**, v. 22, n. 4, p. 411–419, jun. 2016.

VELJI, A.; BRYANT, J. H. Ética na saúde global. *In*: **Compreendendo a saúde global**. Tradução Alba Helena de Mattos Mercadante Guedes. 2ª ed. Porto Alegre: [s.n.]. p. 586.

VOGEL, F.; MOTULSKY, A. G. **Genética Humana: Problemas e Abordagens**. 3. ed. Rio de Janeiro: [s.n.].

WAIZBORT, R. Teoria social e biologia: perspectivas e problemas da introdução do conceito de história nas ciências biológicas. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, v. 8, n. 3, p. 633–653, dez. 2001.

WATSON, J. D. **DNA: o segredo da vida**. Tradução Carlos Afonso Malferrari. São Paulo: [s.n.].

WATTS, G. *et al.* Novel techniques for the prevention of mitochondrial DNA disorders: An ethical review. **Nuffield Council on Bioethics**, p. 18–97, 2012.

WEAVER, I. C. G. *et al.* Epigenetic programming by maternal behavior. **Nature Neuroscience**, v. 7, n. 8, p. 847–854, 2004.

WEBBER, B. L.; RAGHU, S.; EDWARDS, O. R. Opinion: Is CRISPR-based gene drive a biocontrol silver bullet or global conservation threat? **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 34, p. 10565–10567, 25 ago. 2015.

WEINBERGER, A. D.; GILMORE, M. S. CRISPR-Cas: To Take Up DNA or Not—That Is the Question. **Cell Host & Microbe**, v. 12, n. 2, p. 125–126, 16 ago. 2012.

WILLIAMS, C. G. **Adaptation and natural selection - A Critique of Some Current Evolutionary Thought**. New Jersey: [s.n.].

WOESE, C. R.; FOX, G. E. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 74, n. 11, p. 5088–5090, 1977.

WORLD BANK. The World Bank Annual Report 2005. **The World Bank**, World Bank

Annual Report. 24 set. 2005.

YANG, Z.; NIELSEN, R. Estimating synonymous and nonsynonymous substitution rates under realistic evolutionary models. **Mol Biol Evol**, v. 17, n. January, p. 32–43, 2000.

YOUNGSON, N. A.; WHITELOW, E. Transgenerational Epigenetic Effects. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, v. 9, n. 1, p. 233–257, set. 2008.

ZATZ, M. **Genética: escolhas que nossos avós não faziam**. 1. ed. São Paulo: Globo Livros, 2012.

ZENG, Y. *et al.* Correction of the Marfan Syndrome Pathogenic FBN1 Mutation by Base Editing in Human Cells and Heterozygous Embryos. **Molecular Therapy**, v. 0, n. 0, 2018.

ZETSCHE, B. *et al.* Cpf1 Is a Single RNA-Guided Endonuclease of a Class 2 CRISPR-Cas System Article Cpf1 Is a Single RNA-Guided Endonuclease of a Class 2 CRISPR-Cas System. **Cell**, v. 163, p. 759–771, 2015.

ZEVIANI, M.; DONATO, S. DI. Mitochondrial disorders. **Brain**, v. 127, n. 10, p. 2153–2172, 13 set. 2004.

ZHANG, F.; WEN, Y.; GUO, X. CRISPR/Cas9 for genome editing: progress, implications and challenges. **Human Molecular Genetics**, v. 23, n. R1, p. R40–R46, 15 set. 2014.

ZHANG, S. **Tudo o que você precisa saber sobre a CRISPR, nova ferramenta de edição de DNA - Gizmodo Brasil**. Disponível em: <<http://gizmodo.uol.com.br/tudo-o-que-voce-precisa-saber-sobre-a-crispr-nova-ferramenta-de-edicao-de-dna/>>. Acesso em: 18 maio. 2016a.

\_\_\_\_\_. Tudo o que você precisa saber sobre a CRISPR, nova ferramenta de edição de DNA - Gizmodo Brasil. **Gizmodo Brasil**, p. 1, 2015b.

ZHANG, X.-H. *et al.* Off-target Effects in CRISPR/Cas9-mediated Genome Engineering. **Molecular Therapy - Nucleic Acids**, v. 4, 1 jan. 2015.

## APÊNDICE A – A VIDA E O CONHECIMENTO CIENTÍFICO QUE SE TEM SOBRE ELA

### 5 TEORIAS DA EVOLUÇÃO

Dentre as várias teorias explicativas para o surgimento da vida em nosso planeta e para a evolução das espécies, nos ateremos apenas a três delas por estarem mais frequentemente presentes nas discussões atuais: a *Teoria Sintética da Evolução* ou *Neodarwinismo* – que tem como base a *Teoria da Evolução das Espécies através da Seleção Natural* de Darwin<sup>84</sup> (Darwin, 2009) -, a *Teoria Criacionista* e a *Teoria do Design Inteligente*. Apesar disso, não poderemos deixar de considerar, além da própria Teoria Darwiniana, a *Teoria do Equilíbrio Pontuado* de Stephen Jay Gould (1941-2002) e Niles Eldredge (1943-) que oferece uma ampliação da janela explicativa da Teoria Sintética (Felizardo, 2006), bem como a *Teoria dos Caracteres Adquiridos* de Lamarck (1744-1829), que vem sendo de alguma forma resgatada nos atuais estudos à luz dos avanços nesta área. Esta escolha (que não expressa em absoluto nenhuma consideração de valoração de mérito científico, ideológico, religioso ou político, tampouco de desconsideração aos demais modelos teóricos) nos será suficiente para expor o ponto de vista que pretendemos, a partir de três perguntas que interessam ao nosso propósito: 1) uma espécie pode evoluir, seja a partir de estímulos ou modificações do meio ambiente, seja artificialmente através da edição e seus genes, ou como resultado de ambas as circunstâncias? 2) há limites para essa evolução? 3) é possível prever e controlar tal evolução? Dado este limite de interesse, não nos será necessário buscar conclusão sobre qual teoria melhor satisfaz os critérios científicos ou qual congrega o mais consistente conjunto probatório a partir do confronto com a realidade, vez que de fato as incertezas de cada uma nos dirão mais que as certezas que lhes são próprias. Da mesma forma, nos absteremos de discutir se Criacionismo e Designe Inteligente em essência são variações de uma mesma teoria, ainda que haja uma discussão acalorada entre representantes destes

---

<sup>84</sup> *On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life* ("Da Origem das Espécies por Meio da Seleção Natural ou a Preservação de Raças Favorecidas na Luta pela Vida"), de Charles Darwin teve sua primeira edição em 1859. Somente na sexta edição, em 1872, o título foi abreviado para *The Origin of Species (A Origem das Espécies)*, como é popularmente conhecido até os dias atuais. (Darwin, 2009).

e alguns evolucionistas<sup>85</sup>. Para facilitar a discussão, vamos resgatar muito resumidamente, do que tratam essas teorias, para depois prosseguir em nosso debate.

Também conhecida como Teoria pré-darwiniana da Evolução ou Lamarquismo, a *Teoria dos Caracteres Adquiridos*, postulada por Lamarck em seu livro *Philosophie zoologique ou Exposition des Considérations Relatives à L'histoire Naturelle des Animaux*, propõe que a evolução seria uma tendência natural recebida de Deus e resultante de duas leis: a *Lei do Uso e Desuso* e a *Lei da Hereditariedade*, que atuando em conjunto, sob influência do meio ambiente, determinariam o caminho evolutivo das espécies - as plantas e os animais evoluiriam pela necessidade de se adaptar às mudanças do meio ambiente e transmitiriam essas características novas para seus descendentes. Lamack situava no indivíduo a responsabilidade pela evolução e este princípio é endossado mais tarde tanto, por Darwin como pelos Neodarwinistas e tem repercussão importante para a discussão que faremos sobre CRISPR. (Felizardo, 2006).

A Teoria Sintética da Evolução, que também é denominada neodarwinista, surge como resultado das discussões e trabalhos de diversos autores como o zoólogo Ernest Mayr (1904-2005), o geneticista Theodosius Dobzhansky (1900-1975), o botânico George Ledyard Stebbins Jr. (1906-2000) e o paleontólogo George Gaylord Simpson (1902-1984) que, a partir dos conhecimentos advindos da genética moderna, incorporam ao pressuposto da seleção natural, o da mutação e da recombinação gênica para superar algumas das limitações explicativas da Teoria Darwiniana da evolução<sup>86</sup>. Como salienta Felizardo, esta teoria afirma a transformação lenta e gradual das espécies, através do mecanismo de seleção natural atuando sobre os genes. (Felizardo, 2006).

O Criacionismo pode ser definido como um movimento de pensadores de diversas áreas do conhecimento, vinculados a várias orientações religiosas, que

---

<sup>85</sup> O debate acirrado, vez por outra para além da ortodoxia científica, entre criacionistas e evolucionistas, ocorre com mais intensidade nos Estados Unidos da América, onde assume contornos políticos e normativo-legais, mas também em menor grau em outros países como o Brasil. (Almeida Filho, 2008; Almeida Filho *et al.*, 2004; Maia, 2007).

<sup>86</sup> Ernst Mayr no livro "*One Long Argument: Charles Darwin and The Genesis of Modern Evolutionary Thought*" faz um interessante relato de todo o processo de construção da Síntese, desde as ideias e teorias trazidas ao debate, passando pelos diversos pensadores até as conclusões mais relevantes que lhe dão sustentação. (Mayr, 1993).

procuram conciliar os novos conhecimentos científicos com a narrativa da criação do Livro Gênesis 1, no Antigo Testamento<sup>87</sup>, a partir do entendimento de que a Teoria da Evolução não é capaz de explicar satisfatoriamente como a vida surgiu na Terra, a sua história, diversidade e complexidade. Independentemente da perspectiva sobre a qual se faça a leitura do texto bíblico, mais literal ou mais interpretativa, não se altera o entendimento de que a criação do mundo, de todas as coisas que nele existem e de toda a vida é um ato da vontade de Deus, segundo o Seu desígnio. (Paley, 1825). Todos os seres vivos foram feitos em uma sequência de atos de bondade divina, num mesmo lócus temporal e permanecem como tal, não há espaço para a evolução como proposto pela teoria Evolucionista. Sob esta perspectiva, o mundo é o que é<sup>88</sup>, nenhuma espécie nova surgiu após a criação e nenhuma espécie nova poderá surgir senão por vontade do Criador. Com efeito, visto que a base Criacionista, como dito, está contida no Livro do Genesis 1 e se alicerça no dogma da fé, há quem considere incorreto denominar o Criacionismo de teoria, na justa medida em que o termo teoria correntemente se refere a um conjunto de hipóteses, que após confronto com a realidade (a experimentação segundo os preceitos do método científico), consubstanciam arcabouço explicativo da mesma que passam a ser amplamente aceitos pela comunidade científica, motivo pelo qual que não seria possível aplicá-lo à tese Criacionista. Alguns evolucionistas se referem a tais teorias de “crenças criacionistas”. (Futuyma, 1992, p. 8). Frequentemente questiona-se se a ciência pode confrontar tais postulados que sustentam o dogma da fé e provar sua veracidade<sup>89</sup>?

---

<sup>87</sup> “1 No princípio Deus criou os céus e a terra. 2 Era a terra sem forma e vazia; trevas cobriam a face do abismo, e o Espírito de Deus se movia sobre a face das águas. [...] 21 Assim Deus criou os grandes animais aquáticos e os demais seres vivos que povoam as águas, de acordo com as suas espécies; e todas as aves, de acordo com as suas espécies. E Deus viu que ficou bom. [...] 24 E disse Deus: “Produza a terra seres vivos de acordo com as suas espécies: rebanhos domésticos, animais selvagens e os demais seres vivos da terra, cada um de acordo com a sua espécie”. E assim foi. [...] 27 Criou Deus o homem à sua imagem, à imagem de Deus o criou; homem e mulher os criou. [...] 31 E Deus viu tudo o que havia feito, e tudo havia ficado muito bom.” (Conferencia Episcopal Española, 2011, tradução nossa).

<sup>88</sup> Apesar de Heráclito, Anaximandro, Empédocles e Lucrecio elaborarem a ideia de que os seres vivos não são fixos e sofrem mudanças ao longo do tempo, é a tese oposta de Aristóteles, neste aspecto convergente com a visão teológica, que dominou toda a ciência e o pensamento ocidental desde a antiguidade até o surgimento da Teoria da Evolução de Darwin. (Felizardo, 2006). Sob este aspecto, como bem sinaliza Kesselring (2000), Darwin é parte da revolução no pensamento ocidental (iniciada a partir do século XIV) que promove a ruptura com visão a de mundo que dominara toda a idade antiga e medieval: a tradição grega e a teológica.

<sup>89</sup> William Paley (1743-1805), Clérigo e teólogo inglês, em sua obra “*Natural Theology: or, Evidences of the Existence and Attributes of the Deity, Collected from the Appearances of Nature*”, de 1802, utiliza a analogia do relojoeiro, para estabelecer uma ponte, um nexos causal, entre natureza e Deus, argumentando que complexidade e adaptação eram provas da intervenção divina na criação.

Para alguns estudiosos que fazem a leitura mais interpretativa do texto religioso, ao menos em parte, parece ser possível que sim. Segundo eles, o texto bíblico seria em certa medida, um relato histórico em forma simbólica de eventos passados. Não obstante, no que interessa à nossa discussão, para criacionistas, somente a vontade de Deus seria capaz de criar novas espécies, estas não poderiam por si ou ao acaso, impulsionados pelo meio ambiente ou ao sabor do acaso genético, evoluírem dentro das próprias espécies, quanto mais a ponto de criar novos filos. Pode-se dizer que criacionistas tem pelo menos três dogmas centrais para explicar o mundo e toda vida que nele existe: 1º Deus é o criador de toda vida; 2º toda vida é a revelação da vontade de Deus; 3º toda vida tem um desígnio, um propósito em Deus.

A *Teoria do Design Inteligente*, partindo de pressupostos próximos aos Criacionistas, de que Teoria da Evolução não é capaz de explicar satisfatoriamente como a vida surgiu na Terra, a sua história, diversidade e complexidade, mas sem aceitar o *desígnio divino* como força motriz da criação, estabelece que a complexidade dos organismos e dos processos biológicos é de tal ordem e grandeza que não poderiam ser o produto fortuito do acaso e da seleção natural e que somente um projeto, fruto de uma inteligência seria capaz de produzir seres vivos com a complexidade genética e fenotípica existente. A esta inteligência criadora de projetos tão complexos como a vida em todas as suas manifestações, denominam de *designer* ou *arquitecto*. (Almeida Filho, 2008). Para os defensores desta teoria, um princípio e três pressupostos são fundamentais. O princípio é o que denominam *uniformitarianismo*: o mundo presente é fundamental para o entendimento do passado uma vez que os processos complexos da vida presente são os mesmos do passado, há uma uniformidade biológica atemporal, de modo que compreendendo um, compreende-se o outro. Os pressupostos são: 1º complexidade irreduzível; 2º projeto, e 3º projetista. A complexidade irreduzível somente é possível a partir de um projeto, que traduz intrinsecamente um conjunto de informações indispensáveis e complexas, de uma tal ordem que não pode ser reduzido sem comprometer o produto final. Todo projeto revela um propósito, uma intenção de um projetista. Observando a extrema complexidade dos organismos vivos, desde as intrincadas cadeias de DNA aos mais complexos sistemas orgânicos, das menores moléculas de proteínas aos mais complexos e intrincados processos metabólicos e homeostáticos, Minnich entende como imperioso admitir que a melhor explicação para a origem destes sistemas irreduzivelmente complexos em organismos vivos é o reconhecimento da existência



de um projeto que lhes de causa, o que implica admitir que um *projetista* - um *engenheiro* ou, como preferem denominar, um *designer* - atuou na origem de tais sistemas. De outra forma, entende o autor como pouco crível imaginar que o mecanismo de seleção natural, associado às mutações pudesse ser dotado de tal capacidade criativa: “pode-se agora considerar a hipótese do projeto como a melhor explicação para a origem de sistemas irreduzivelmente complexos em organismos vivos.” (*one might now consider the design hypothesis as the best explanation for the origin of irreducibly complex systems in living organisms*). (Minnich e Meyer, 2004, p. 8). Em síntese, pode-se dizer que uniformitarianismo, complexidade irreduzível, projeto, e projetista compõe o quarteto dogmático do *Designe Inteligente*.

Futuyma, reconhecido evolucionista, faz a seguinte consideração:

Primeiro, a visão predominante era a de um mundo estático, idêntico em todas as essências à criação perfeita do Criador. Acreditava-se que as espécies vivas foram criadas individualmente em suas formas atuais (a doutrina da criação especial). [...] Geólogos começaram a entender que a Terra tinha tido uma longa história de mudança dinâmica, mas foi Darwin que estendeu aos seres vivos, e à espécie humana, a conclusão de que a mudança, e não a estase, é a ordem natural. (Futuyma, 1992, p. 5)

E conclui que: “Darwin foi arrojado o suficiente para afirmar que as espécies não têm essências”. (Futuyma, 1992, p. 6). Os reflexos dessa afirmação na formação das ciências da vida nas décadas seguintes são várias e, dada a sua importância para as nossas discussões, nos referimos a elas quando tratamos do uso de edição gênica para fins de melhoramento e principalmente nas conclusões.

Niles Eldredge e principalmente Stephen Jay Gould indicam que a Teoria Sintética da Evolução não consegue explicar satisfatoriamente alguns aspectos fundamentais da teoria, que teriam sido negligenciados pelos seus teóricos - o gradualismo, o programa adaptacionista e a contingência do processo evolutivo - e propõe a superação a partir de três elementos. Vale lembrar que o gradualismo, ou ritmo gradual da evolução, é um dos principais pontos de dificuldade que já havia sido apontado, como vimos no item 2.2.1, pelo próprio Darwin e mais tarde também pelos teóricos do Design Inteligente, em razão da ausência de registros fósseis de espécies evolutivas intermediárias. Para superar tal problema Gould desenvolve a Teoria do Equilíbrio Pontuado, na qual a evolução não seria lenta e gradual, mas em saltos

evolutivos<sup>90</sup>, disparados a partir de eventos geológicos/cataclísmicos associado à especiação, se conformando assim à ausência de espécimes evolutivos intermediários no registro fóssil. Sobre a crítica ao programa adaptacionista, Gould e Lewontin consideram que o indivíduo não é apenas o resultado evolutivo de um arranjo adaptativo necessário de características que, sob o crivo da seleção natural, funcionalmente melhor responderiam às pressões do ambiente para sobreviver e gerar descendentes. Certas características do indivíduo, ou da espécie poderiam ser “exaptações”<sup>91</sup> ou “spandrels”<sup>92</sup>. (Felizardo, 2006).

Com efeito, os fósseis de Burgess Shale - formação geológica na Colúmbia Britânica, Canadá, descobertos por Charles Doolittle Walcott em 1909, um dos mais relevantes achados do período Cambriano, composto por grande quantidade de fósseis perfeitamente conservados, dentre eles animais de corpo mole, ao mesmo tempo em que denotam uma surpreendente explosão de vida em diversidade e complexidade, é um desafio para a afirmação do gradualismo da evolução, uma vez que ela em si não revela a existência de espécimes evolutivamente intermediários e o registro fóssil do período anterior, o pré-cambriano, também não registra os espécimes intermediários antecessores que lhes deram origem. Vez que a Teoria do Artefato (de um registro fóssil imperfeito), nos termos de Darwin e de seus sucessores da Teoria Sintética da Evolução, também não parece ser suficiente sólido para sustentar o gradualismo evolutivo, Gould introduz a ideia da *contingência histórica* (especialmente os eventos motivados por fenômenos geológicos, climáticos ou

---

<sup>90</sup> A ideia de saltos evolutivos surgiu a partir do pensamento de Richard Goldschmidt que propôs que a evolução se daria através de dois processos distintos: micromutações e macromutações. As primeiras, mais comuns, seriam uma acomodação das espécies ao ambiente, atuariam no nível do indivíduo e não seriam capazes de produzir novas espécies. Já as segundas seriam raras, atuariam no nível das espécies e acima e seriam justamente as que teriam capacidade de produzir novas espécies. Assim, as micromutações seriam uma fase complementar de especiação das macromutações, como uma forma de adaptação no sentido de acomodação de características específicas necessárias à sobrevivência que não houvessem sido suplantadas pelas macroevoluções. (Felizardo, 2006, p. 45).

<sup>91</sup> O termo “exaptação” foi sugerido por Stephen Jay Gould e Elisabeth S. Vrba em um artigo publicado em 1982, intitulado “*Exaptation - A missing term in the science of form*” para expressar características fenotípicas que não seriam adaptações efetuada de origem para a seleção natural, mas que uma vez disponíveis, seriam cooptadas pelas necessidades posteriores ao seu surgimento. (Gould e Vrba, 1982).

<sup>92</sup> O termo “spandrels”, conhecido como “tímpanos”, tem sua origem na arquitetura e expressa o triângulo formado pelo espaço de entrecruzamento em ângulo reto de dois arcos e o teto e foi trazido para a biologia por Stephen Jay Gould e Richard Lewontin em um paper de 1979, intitulado “Os Casamentos de San Marco e o Paradigma Panglossiano: Uma Crítica ao Programa Adaptacionista”, para expressar resultados evolutivos de condicionantes históricas e limitações estruturais relacionadas a ancestralidade sem origem adaptativa ou funcional.

cosmológicos) como fator evolutivo associado à teoria do equilíbrio pontuado para solucionar o problema, muito embora não seja tal proposta de ampla aceitação. O autor defende que grandes eventos naturais como a queda de meteoros, eras glaciais, etc., ao provocarem profundas mudanças no ambiente, dariam causa a grandes eventos de extinção, saltos evolutivos e especiação, isso explicaria a explosão de vida registrada nos fósseis de Burgess Shale e a ausência de espécimes intermediários, pois eles simplesmente não existiriam. (Gould, 1989).

Aliás, quando se trata de evolução e tempo, dois elementos que desde logo nos são importantes, Hector Seuáñez, traz um debate interessante sobre uma questão bastante específica, o paradoxo do crescimento rápido do cérebro humano, que ao tempo é ilustrativa em nossa discussão:

O homem é uma espécie relativamente nova, pois embora os primeiros hominídeos presumidamente tenham surgido há 15 milhões de anos atrás, os restos mortais de seres que poderiam ser propriamente considerados de *Homo sapiens* não têm mais de 250.000 anos de idade. A ascensão do homem como a mais bem-sucedida de todas as espécies vivas foi assim alcançada em um número surpreendentemente pequeno de gerações. Considerando-se 15 anos como o tempo necessário para o homem atingir a puberdade, e extrapolando um período similar para nossos ancestrais hominídeos, o tempo decorrido desde a ramificação do primeiro hominídeo do estoque comum de macaco-hominídeo engloba  $1 \times 10^6$  gerações. Este número pode parecer inicialmente alto, mas o mesmo número de gerações cobriria 250.000 anos no caso de um mamífero pequeno, por exemplo um camundongo, que pode se reproduzir com a idade de três meses. Além disso, no caso de bactérias capazes de se dividir em condições favoráveis a cada vinte minutos, elas poderiam levar apenas 76 anos. (Seuáñez, 1979, p. 3, tradução nossa).

Logo em seguida Seuáñez argumenta que outra forma de se dimensionar a velocidade da evolução de nossa espécie pode ser obtida, a partir das mutações, estimando-se o número de divisões celulares da linhagem germinativa, ao invés do número de vezes que organismos inteiros foram reproduzidos, que foi o cálculo anterior:

Embora não saibamos se essas estimativas são válidas para hominídeos extintos, poderíamos imaginar que nossas linhagens de células germinativas tenham sofrido  $36 \times 10^6$  e  $23 \times 10^6$  ciclos masculino e feminino, respectivamente, nos últimos 15 milhões de anos [...] A mais notável delas [mudanças na linhagem humana] foi a que afetou o tamanho do cérebro, que não era maior do que  $450 \text{ cm}^3$  em *Australopithecus africanus*, [...] há 4,5 milhões de anos. Se considerarmos  $1.400 \text{ cm}^3$  como o tamanho médio do cérebro do homem moderno, aumentamos o tamanho do nosso cérebro por um fator de aproximadamente 3 vezes em apenas 300.000 gerações, o que compreende aproximadamente  $11 \times 10^6$  e  $7 \times 10^6$  divisões de células germinativas masculinas e femininas, respectivamente. Assim, podemos imaginar que, como uma espécie em evolução muito rápida, devemos ter acumulado um

grande número de mutações por divisão e geração de células germinativas para explicar o elaborado grau de organização neural, bem como para muitos outros fatores [...] Sabemos, no entanto, que a seleção natural pode colocar um teto para o número máximo de mutações que podem se tornar fixas em organismos em rápida evolução, se quiserem sobreviver. Além disso, estimou-se que a taxa de mutação genética estrutural nas linhagens de primatas elevados ou tenha desacelerado ou no máximo permaneceu constante, a tal ponto que não é possível explicar a evolução orgânica ter sido diretamente derivada da simples mutação genética estrutural [...]. Assim, a evolução do homem representa o mais intrigante de todos os paradoxos para os quais nenhuma resposta completa foi encontrada até agora. (Seuánez, 1979, p. 3, tradução nossa).

A análise acima se torna mais surpreendente se levarmos em conta a hipótese da “Eva mitocondrial”, resultante do trabalho em genética molecular de Douglas Wallace e seus colegas na Universidade Emory, e de Alan Wilson e seus colegas na Universidade da Califórnia, em Berkeley, nos anos 80:

As análises não apenas indicaram uma origem africana para os humanos modernos, como também revelaram a ausência de indício de intercruzamento com a população pré-moderna. Todas as amostras de DNA mitocondrial<sup>93 94</sup> originárias de populações humanas existentes analisadas até agora são notavelmente similares umas às outras, indicando uma origem recente e comum. [...] Isto implica que os recém-chegados modernos substituíram completamente as populações antigas — tendo o processo começado na África há 150 mil anos e então se disseminado através da Eurásia nos 100 mil anos seguintes. (Leakey, 1997, p. 98).

## 6 O PROJETO GENOMA HUMANO (PGH)

Aliás, falando em desafios, citamos em alguns capítulos o PGH sem maiores referências, o que parece ser oportuno fazê-lo agora.

---

<sup>93</sup> O DNA mitocondrial é constituído basicamente do DNA materno. Localizado em organelas fora do núcleo da célula, não participa da fusão com DNA paterno no processo de fecundação, de modo que preserva o mesmo código por muitas gerações, motivo pelo qual muitos se referem a ele como “Eva mitocondrial”.

<sup>94</sup> Segundo Leakey (1997): “A mitogenômica é uma variação da genômica que, em vez de trabalhar com o DNA existente no núcleo celular, busca acessar as informações sobre as sequências de nucleotídeos contidas nas mitocôndrias. Exemplo prático interessante da união entre genética evolutiva e a paleontologia é o estudo feito sobre a evolução de moscas varejeiras (*Large-scale mitogenomics enables insights into Schizophora (Diptera) radiation and population diversity*), feito por Carolina *et al.* (2016). Em entrevista à Agência FAPESP, Carolina declara que: “Com base na diversidade dos nucleotídeos, é possível estimar o tempo de divergência de cada espécie ou família ao longo da escala geológica e esclarecer as relações filogenéticas. Usamos como referência os poucos dados fósseis existentes sobre invertebrados [...] No caso dos insetos, os fósseis são datados de acordo com a camada geológica em que foram encontrados. Adicionamos os dados moleculares sobre essas informações para estimar o período em que uma espécie divergiu de outra”. (Toledo, 2017a).

Quando do início do PGH em 1990 - o maior projeto internacional em biotecnologia já realizado e do qual o Brasil e outros países em desenvolvimento foram excluídos -, muitos acreditavam que ao final a humanidade teria o conhecimento não só da solução para todas as doenças herdadas e adquiridas, mas também a condição de elevar a espécie humana à plenitude de suas capacidades e à perfeição. Seria o grande salto evolutivo da humanidade (Corrêa, 2002), depois de 7 milhões de anos desde que nosso primeiro ancestral surgiu na África. (Leakey, 1997). O homem finalmente iria não apenas dominar, mas principalmente, superar a própria natureza. Ao final, treze anos depois (2003), com 99% do código mapeado, algumas conclusões surpreenderam: a quantidade de genes codificadores de proteínas encontrado (aproximadamente 25 mil genes<sup>95</sup>) foi menos de um terço do que se estimava existir; apenas 3% são codificantes, os outros 97% não sintetizam proteínas e a ciência ainda hoje muito pouco sabe sobre o que fazem e que função desempenham. (Ferreira, 2016). A conclusão mais surpreendente foi de que o código genético, diferentemente do que se pensava, não é como um programa de computador em que uma vez conhecida a “linguagem” (os “comandos”) e a sequência, seria possível reprogramá-lo a partir de qualquer ponto, ou até mesmo programar um ser humano completo a partir do zero.

Leite, traça um interessante mapa do pós PGH, não apenas para dar sentido ao esforço colaborativo em grande escala, que resultara aquém das expectativas iniciais, mas também para trazer ao debate as estratégias que se vislumbram para o enfrentamento dos desafios não superados pelo projeto original. Estratégias estas que parecem avançar em objetivos bastante concretos, embora talvez menos tão centrados na suposta neutralidade da ciência:

[...] a metáfora do Livro da Vida é substituída, implicitamente, pela de um Edifício da Vida, em que o PGH é rebaixado à condição de mero alicerce para erguer três andares sucessivos: Genômica para a biologia, Genômica para a saúde e Genômica para a sociedade (Collins et al., 2003a, p. 836). Primeiro piso: o objetivo é entender a arquitetura do próprio genoma, compilando um catálogo de todos os seus elementos funcionais (e não somente genes no sentido "codificante"). Segundo piso: aplicar as informações estruturais do genoma na caracterização de doenças, de modo a criar uma nova taxonomia, molecular das mesmas, assim como desenvolver novas abordagens terapêuticas. Terceiro piso: projetar conhecimentos genômicos para além do

---

<sup>95</sup> O quantitativo total de genes codificante de proteínas no DNA humano tem sido atualizado ao longo dos anos a partir de sucessivos estudos indicam algo entre 19 e 20 mil genes. (Ezkurdia *et al.*, 2014).

contexto clínico, extraindo conclusões nos campos racial, étnico e comportamental e debatendo as consequências e limites éticos desses usos.

[...] Não por acaso, o programa apresentado pelos autores do DOE [Departamento de Energia dos EUA] na Science vem batizado como Genomas para a vida (Frazier *et al.*, 2003, p. 290), como se fosse um quarto andar no edifício do NHGRI, ou quem sabe um prédio vizinho. O projeto aqui é estender as malhas da genômica a dois campos cruciais para a sustentabilidade da economia em sua relação com a natureza, energia de fontes limpas e saneamento ambiental, com o sequenciamento de plantas e até de comunidades inteiras de microrganismos, na esperança de aprender com eles soluções bioquímicas ancestrais para o enfrentamento de condições ambientais extremas: "Um objetivo central deste programa é entender tão bem micróbios e comunidades de micróbios, assim como suas máquinas moleculares e controles no plano molecular, que possamos usá-los para satisfazer necessidades nacionais e do DOE" ((Frazier *et al.*, 2003, p. 291)); [...]). Em lugar de um patrimônio comum da humanidade (a informação contida no genoma humano) e um imperativo moral (sequenciar o genoma para curar doenças), a biologia modelo Big Science começa a transferir-se para o domínio da justificação com base num conjunto de valores então mais em voga – a segurança nacional dos Estados Unidos: "conhecimento é poder, e nós precisamos desenvolver uma compreensão ampla dos sistemas biológicos, se pretendermos usar suas capacidades eficazmente para enfrentar desafios sociais tremendos" . (Frazier *et al.*, 2003, p. 293 apud Leite, 2006, p. 446-447).

Entender o que isto significa no contexto do mundo global, na luta travada desde a revolução industrial por hegemonia geopolítica e econômica, a partir da aliança entre mercado e tecnologia, favorecendo e fortalecendo irremediavelmente a formação de grandes corporações transnacionais, o chamado capital sem pátria, que em última análise, é poder real deste nosso tempo, parece ser uma reflexão fundamental para inserir CRISPR no contexto da busca pelo domínio sobre o genoma de todas as espécies, que em última análise, significa o domínio sobre a vida em seu sentido mais amplo e absoluto. Mais do que discutir o presente, trata-se de discutir o futuro. Não poderemos aqui adentrar neste debate, embora seja ele talvez um dos mais importantes que cientistas e sociedade precisem e devam fazer.

## APÊNDICE B – OS NUCLEOTÍDEOS E AS INTERFACES DA VIDA

### 7 DNA, RNA E OUTROS ELEMENTOS MÓVEIS

Visto que estamos a tratar de edição gênica, cumpre-nos o dever de precisar que código genético pode ser editado e onde ele está localizado, vez que eventualmente o senso comum, de nós outros que somos de outras áreas que não das ciências da vida, pode nos induzir ao erro de imaginar que apenas o DNA nuclear (nDNA) pode ser alvo de modificação. Por este motivo, faremos uma exposição sintética, talvez até minimalista e pretensiosamente suficiente sobre o DNA (ácido desoxirribonucleico), seu derivado, o RNA (ácido ribonucleico) e também sobre outras organelas que contém partes de DNA ou fragmentos de nucleotídeos, entre elas plasmídeos e mitocôndrias, no intuito de facilitar a abordagem de algumas questões mais técnicas que tratamos em vários momentos, minimizando assim a necessidade de excessivas, exaustivas e fragmentadas notas explicativas que não facilitam o entendimento do conjunto argumentativo.

#### 7.1 PROCARIONTE

À guisa de contextualizar, vamos começar do início. Grosso modo, existem dois tipos de seres vivos: os procariontes e os eucariontes. A palavra procarionte, de origem grega, é composta do prefixo *pro* = primeiro e do sufixo *karyon* = noz, núcleo, e se refere a uma célula que não possui núcleo verdadeiro separado do citoplasma por uma membrana, de tal forma que os cromossomos se encontram imersos no meio celular. Além disso possuem quantidade muito pequena de estruturas funcionais internas (organelas), vide Figura 13. Também chamadas de protocélulas, fazem parte deste grupo bactérias, incluindo PPLO<sup>96</sup> ("pleuro-pneumonia like organisms" ou *Mycoplasma*) e algas azuis (cianobactérias). Estão também neste grupo as bactérias

---

<sup>96</sup> Há um debate inconclusivo sobre se *Mycoplasma* (ou PPLO) e bactérias são estirpes separadas ou se as bactérias evoluíram de *Mycoplasmas* primitivos, ou ainda se os *Mycoplasma* evoluíram a partir de vírus. Diferentemente das bactérias que possuem uma forma anatômica definida, decorrente de possuírem membrana celular sólida, os *Mycoplasmas* têm membrana flexível que lhes confere forma indefinida. Estas duas características (tamanho reduzido e forma indefinida) dificultam sobremaneira a sua visualização e identificação, mesmo em potentes microscópios eletrônicos. São responsáveis por doenças como as inflamações alérgicas e pneumonia atípica, entre outras. Investiga-se uma possível relação dos mesmos com algumas doenças como o diabetes mellitus tipo I e a esclerose múltipla.

dos grupos das *Rickettsias* e *clamídias*, consideradas parasitas intracelulares obrigatórios por não terem capacidade de autoduplicação independente, dependendo de outras células hospedeiras para tal.

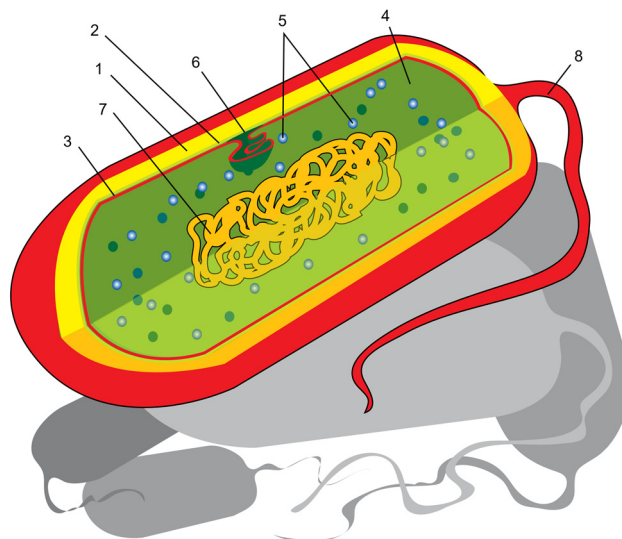


Figura 13 - Estrutura típica de uma célula procariote, representada por uma bactéria.  
 Legenda: 1. Cápsula, 2. Parede celular, 3. Membrana plasmática, 4. Citoplasma, 5. Ribossomos, 6. Mesossomos, 7. DNA (nucleóide), 8. Flagelo bacteriano.  
 Fonte: traduzido por Felipe Fontoura, baseado na imagem de Mariana Ruiz - Image: Prokaryote cell diagram.svg

## 7.2 EUCARIONTE

Eucarionte, do grego quer dizer: *eu* = verdadeiro + *káryon* = noz, núcleo, ou seja, são células que possuem núcleo verdadeiro, separado do citoplasma por uma membrana denominada carioteca e por conter várias organelas (equivalentes aos órgãos de um ser humano) que executam funções celulares específicas. Fazem parte deste grupo protozoários, algas, fungos, vegetais em geral e animais como os répteis, aves e mamíferos (vide figuras 14 e 15). Evolutivamente, os procariontes surgiram antes dos eucariontes.



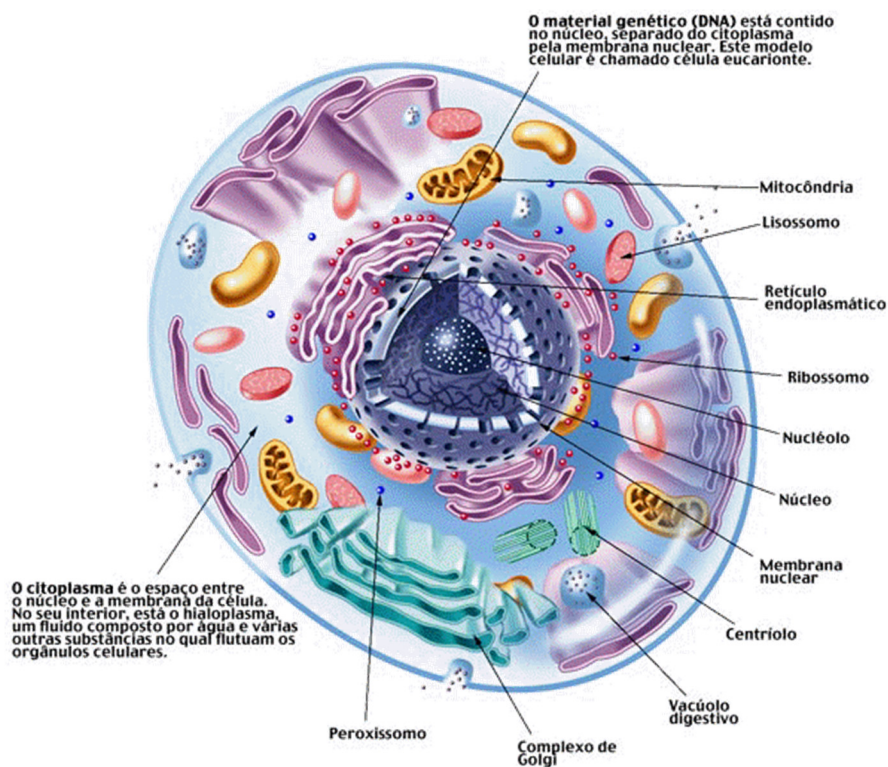


Figura 14 - Estrutura de uma célula eucarionte animal

Fonte: Wikibook, disponível em

<[https://pt.wikibook.org/wiki/Introdu%C3%A7%C3%A3o\\_%C3%A0\\_Biologia/C%C3%A9lula/C%C3%A9lula\\_Procarionte\\_e\\_C%C3%A9lula\\_Eucarionte#/media/File:Celula2.png](https://pt.wikibook.org/wiki/Introdu%C3%A7%C3%A3o_%C3%A0_Biologia/C%C3%A9lula/C%C3%A9lula_Procarionte_e_C%C3%A9lula_Eucarionte#/media/File:Celula2.png)>

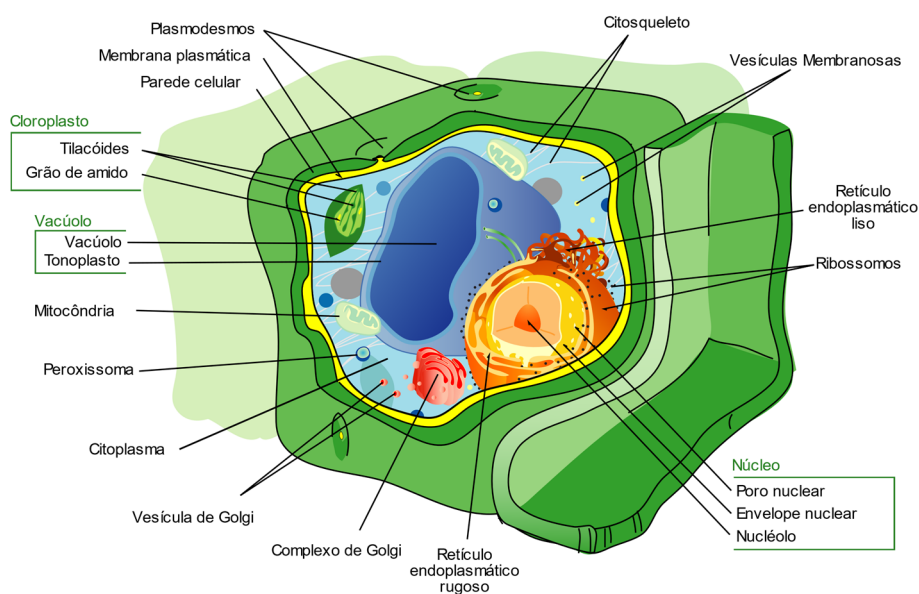


Figura 15 - Estrutura de uma célula eucarionte vegetal

Fonte: LadyofHats (Mariana Ruiz), traduction by Berru to French and traduction by Luís Flávio to Portuguese. - <[http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Plant\\_cell\\_structure\\_fr.svg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Plant_cell_structure_fr.svg)>

### 7.3 PLASMÍDEOS

Outra estrutura intracelular de interesse são os plasmídeos, um deles é o nosso já conhecido *IncX4*, que carrega o gene de resistência *mcr-1*. Por definição, são moléculas de DNA extracromossomal organizadas em forma circular, geralmente com poucos genes (entre poucos milhares a cem mil pares de base), com capacidade de replicação independente do DNA cromossômico – embora utilizem a mesma maquinaria celular de duplicação, podem se replicar a partir de sequências de genes denominada ORI<sup>97</sup> (vide figura 16) na mesma velocidade da duplicação celular ou até de maneira mais acelerada -, são frequentemente transferidas de uma célula para outra. Presentes geralmente em bactérias, também podem ser encontradas em alguns organismos eucariontes unicelulares como a *Saccharomyces cerevisiae*<sup>98</sup>. Numa mesma célula podem existir vários plasmídeos diferentes e várias cópias dos mesmos. De acordo com a função que exercem na célula, são classificados em cinco grupos: 1) plasmídeos de fertilidade (F): promovem o início da conjugação; 2) plasmídeos de resistência (R): garantem a resistência a antimicrobianos (assunto que já discutimos algumas páginas atrás) e outras substâncias que podem causar dano à bactéria; 3) plasmídeos de virulência: tornam as bactérias capazes de provocar doenças; 4) plasmídeos Col: garantem a produção de colicinas, que podem ser letais para outras bactérias e, 5) plasmídeos de degradação: auferem à célula a capacidade de produzir enzimas degradativas (vide na Tabela 5 alguns exemplos de fenótipos conferidos por plasmídeos a organismos procariontes). Alguns tipos de plasmídeos produzem enzimas que formam PILI<sup>99</sup>, estrutura necessária para a transferência de plasmídeos entre células, (vide figura 17). Tais características conferem a esta organela especial interesse como ferramenta molecular nos processos de pesquisa genética e bioquímica, para a introdução e replicação de genes de interesse em meio de cultura, podendo ser encontrado no mercado diversos plasmídeos com sequências

---

<sup>97</sup> ORI (origem de replicação) é uma sequência específica de cinquenta a cem pares de bases de DNA que possibilita a agregação de proteínas específicas que ocasionarão a abertura da dupla fita para iniciar o processo de replicação do plasmídeo. (Griffiths *et al.*, 2002).

<sup>98</sup> *Saccharomyces cerevisiae*, eucariota unicelular, é uma levedura utilizada como fermento biológico na produção de pão, cerveja e etanol.

<sup>99</sup> PILI é uma estrutura em forma de cabelo, composta principalmente de proteínas de pilina, está presente na superfície de várias bactérias e serve para a transferência de plasmídeos entre bactérias. Essa mesma estrutura é eventualmente capturada por vírus bacteriófagos (Griffiths *et al.*, 2002), cujo ataque poderá dar origem à resposta imunológica da bactéria via sistema CRISPR.

de nucleotídeos específicas. Os primeiros usos deste ferramental foram feitos através de DNA recombinante. Uma das metodologias rotineiras em pesquisa consiste em introduzir no plasmídeo um gene de interesse juntamente com um de seleção, por exemplo: introduz-se um gene que expresse uma proteína específica de interesse e mais um gene de resistência antimicrobiana. Em meio de cultura o plasmídeo e o respectivo vetor (que pode ser por exemplo uma bactéria, vírus, fungo ou uma levedura) iniciam o processo de duplicação e ao mesmo tempo é adicionado o antimicrobiano que eliminará os vetores que não contém o plasmídeo por não serem resistentes ao antimicrobiano, garantindo que ao final somente os vetores com o plasmídeo de interesse sobrevivam. (Santos, 2018). Pesquisa para o desenvolvimento de vacina contra o vírus HIV está sendo desenvolvida utilizando plasmídeo *HIVBr18*, construído por DNA recombinante para introduzir respostas imunológica em linfócitos T do tipo CD4. O gene sintético foi adquirido da empresa americana EZBiolab, EUA, <<http://www.ezbiolab.com>>. (Ribeiro *et al.*, 2010; Toledo, 2013). Outra empresa especializada no armazenamento de plasmídeos (atua como repositório mundial) e também os fornece, juntamente com vetores (virais e bacterianos) e outros componentes destinados à pesquisa com edição gênica, é a ADDGENE<sup>100</sup>, EUA, <<http://www.addgene.org/>>, cuja aquisição pode ser feita pela internet e entregue em qualquer lugar do mundo. Consta no site da instituição que o seu repositório contém uma coleção de mais de 60 mil plasmídeos. Até 2015 já haviam sido distribuídos mais de 500 mil plasmídeos, sendo os mais populares (mais procurados) nos últimos seis meses a partir desta pesquisa: *pMD2.G*; *psPAX2*; *pCMV-ABE7.10*; *pX459 (version 2)*; *pX458*; *lentiCRISPR v2*; *pC015 - dLwCas13a-NF*; *pC016 - LwCas13a guide expression backbone with U6 promoter*; *BE4-Gam*, e *pRSV-Rev*. O custo de cada unidade de encomenda destes 10 tipos é de US\$ 65,00. (Addgene, 2018). A empresa mantém também no seu site uma interessante publicação técnica dedicada especificamente ao tema CRISPR, denominada *eBook CRISPR 101* (de livre acesso), oferecido para servir como “recurso educacional CRISPR consolidado para que engenheiros do genoma em desenvolvimento possam utilizá-lo para iniciar seus

---

<sup>100</sup> Na página sobre a missão da ADDGENE <<http://www.addgene.org/mission/>> consta: “A ADDGENE é um repositório global sem fins lucrativos que foi criado para ajudar os cientistas a compartilhar plasmídeos. [...] Antes da ADDGENE, os cientistas eram incumbidos de enviar repetidamente plasmídeos para cada novo cientista solicitante. Agora, os cientistas enviam seus plasmídeos para a ADDGENE uma vez, e nós cuidamos do controle de qualidade, da conformidade com o MTA, do envio e da manutenção de registros”. (Addgene, 2018, tradução nossa).

experimentos". (Gearing, 2016). Segundo matéria publicada na Nature, nº 531, de março de 2016, a empresa já havia enviado "60.000 ferramentas moleculares relacionadas a CRISPR - cerca de 17% de seus embarques totais - para 83 países, e as páginas relacionadas à CRISPR da empresa foram vistas mais de um milhão de vezes em 2015". (Ledford, 2016a). Outras empresas como a New England Biolabs <<https://international.neb.com>> e a OriGene <<https://www.origene.com/>> também vem atuando no seleto segmento de biologia molecular de ponta, fornecendo além de plasmídeos e vetores, outros insumos como cadeias de DNA e RNA, primers, miRNAs e kits específicos para pesquisa, o que facilita sobremaneira o trabalho em laboratórios de edição gênica. Por outro lado, esta fantástica facilidade traz consigo questões relacionadas à biossegurança como as que tratamos no item 2.2.

Tabela 5 - Exemplos de fenótipos conferidos por plasmídeos em procariotos

<b>Classe fenotípica/função</b>	<b>Organismo</b>
<b>Produção de antimicrobianos</b>	<i>Streptomyces</i>
<b>Conjugação</b>	Ampla gama de bactérias
<b>Funções metabólicas</b>	
Degradação de octano, cânfora, naftaleno	<i>Pseudomonas</i>
Degradação de herbicidas	<i>Alcaligenes</i>
Formação de acetona e butanol	<i>Clostridium</i>
Utilização de lactose, sacarose, citrato ou ureia	Bactérias entéricas
Produção de pigmentos	<i>Erwinia, Staphilococcus</i>
<b>Resistência</b>	
Resistência a antimicrobianos	Ampla gama de bactérias
Resistência a metais tóxicos	Ampla gama de bactérias
<b>Virulência</b>	
Produção de tumores em plantas	<i>Agrobacterium</i>
Nodulação e fixação simbiótica de nitrogênio	<i>Rhizonium</i>
Produção e resistência à bacteriocina	Ampla gama de bactérias
Invasão de célula animal	<i>Salmonella, Shigella, yersinia</i>
Coagulase, hemolisina, enterotoxina	<i>Staphylococcus</i>
Toxinas e cápsula	<i>Bacillus antracis</i>
Enterotoxina, antígeno K	<i>Escherichia</i>

Fonte: adaptado de (Silva e Medeiros, 2018)

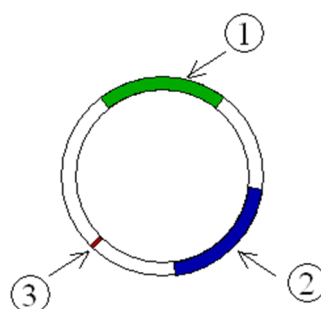


Figura 16 - Desenho esquemático de um plasmídeo com resistências a antibióticos (1" e 2" e um ori 3").

Fonte: Magnus Manske 248x242 (1,921 bytes) (Copied from Nupedia)

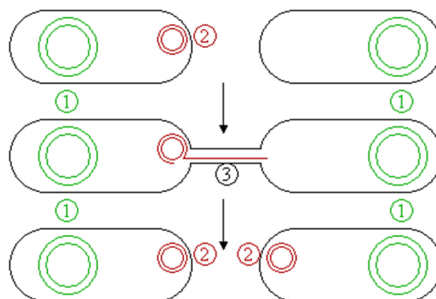


Figura 17 - Desenho esquemático da conjugação bacteriana  
 Legenda: (1) DNA cromossômico. (2) Plasmídeos. (3) Pilus.  
 Fonte: Magnus Manske 365x253 (2,092 bytes). (Copied from Nupedia).

## 7.4 MITOCÔNDRIAS

Temos ainda o DNA nuclear (nDNA) e o mitocondrial (mtDNA). Vamos falar um pouco do mtDNA, contido numa interessante organela de interesse para edição gênica e que tem sido objeto de estudos com CRISPR, e mais recentemente por Editores de Base<sup>101, 102</sup> (BE): as mitocôndrias (*mito* = filamento, *chondrion* = partícula ou grânulo), a que nos referimos algumas páginas atrás quando tratamos de evolução, (vide figura 18). Trata-se de uma estrutura celular *sui generis*, localizada no citoplasma da maior parte dos seres eucariontes, contém entre 5 a 10 unidades completas do DNA mitocondrial (cada mtDNA possui 16.569pb, cerca de 3 mil genes, dos quais apenas 37 deles são codificadores internos, sendo a maior parte dos mil produtos gênicos mitocondriais codificados pelo DNA nuclear (nDNA) e importados para dentro das mitocôndrias. Acredita-se que é herdado exclusivamente da mãe<sup>103</sup> e diferente do DNA contido no núcleo da célula - que é o resultado da fusão de 50% de material genético de cada um dos pais<sup>104</sup>. Transmitido de geração em geração, permite não

<sup>101</sup> Editores de Base é uma variação de CRISPR que é capaz de fazer substituições pontuais de uma única posição alélica, clivando apenas uma das duas fitas do DNA, vide item 2.1.3.

<sup>102</sup> Liang *et al.* (2017) relataram o primeiro experimento no uso de Editores de Base para substituição no alelo mutado HBB-28 (A>G), causador da talassemia.

<sup>103</sup> No entanto, Souza (2005), ainda que com ressalva, chama a atenção para o fato de que: “recentes evidências de transmissão paterna do mtDNA em tecido muscular de um paciente com miopatia mitocondrial demonstram que a herança materna não é uma regra absoluta, mas não devemos negar a sua primazia, pois, em geral, todo mtDNA paterno que consegue penetrar no ovócito sofre a ação de enzimas proteolíticas até a sua degradação completa. Na mesma linha Gyllensten *et al.* (1991) e Arianne *et al.* (2002) publicaram artigos.

<sup>104</sup> Na fecundação, apenas o DNA nuclear dos dois genitores sofre combinação, o DNA mitocondrial da mãe contido no oócito não sofre fusão e permanece como era antes da fecundação. As mitocôndrias

apenas determinar a maternidade do indivíduo, mas a sua ancestralidade - daí o termo *eva mitocondrial (que citamos quando tratamos de evolução)*, o que tem servido de importante ferramenta em estudos de genética evolutiva e paleontologia. Uma das teorias explicativas é de que nos primórdios, uma célula procariótica teria englobado outra célula procariótica (proteobactéria), sem, contudo, “digeri-la”, formando um processo endossimbiótico que teria dado origem às primeiras células eucariontes<sup>105</sup>. Essencial para a vida celular, por meio de uma série de reações eletroquímicas, as mitocôndrias produzem adenosina trifosfato (ATP), um nucleotídeo responsável pelo armazenamento de energia para a respiração celular e geração de calor – estima-se que esta organela seja responsável por 90% do ATP demandado pelo organismo como um todo –, e outras funções importantes como o metabolismo do colesterol, neurotransmissores e na produção de radicais livres, além de serem estudadas as relações dessa organela com a apoptose e o envelhecimento, entre outras. Podem ser encontradas entre dezenas a centenas delas em uma única célula, variando em função do tipo de célula e da demanda da mesma por energia, motivo pelo qual sua maior incidência se dá em células neurais e musculo esqueléticos, mas também na cauda de espermatozoides. O DNA mitocondrial se modifica por mutação, o que ocorre 10 vezes mais<sup>106</sup> que o DNA nuclear, podendo coexistir mtDNA normal e mutado em uma mesma organela<sup>107</sup> - apesar da longa estabilidade transgeracional verificada no estudo da evolução humana -, e está associado em parte às doenças hereditárias, em especial as metabólicas, o que não quer dizer que sejam necessariamente unicamente herança materna vez que o correto funcionamento das mitocôndrias depende de uma perfeita integridade e interação entre o genoma mitocondrial e o nuclear, já que, como dissemos há pouco, a maior parte dos produtos mitocondriais são processados pelo DNA nuclear. Além disso, as mutações não

---

contidas no espermatozoide, concentradas principalmente na região da cauda, para fornecer energia para a mobilidade do mesmo, em tese seriam degradadas pelas enzimas proteolíticas.

<sup>105</sup> A descendência bacteriana da mitocôndria baseia-se em três fatores estruturais principais: 1) o DNA mitocondrial, tal qual o das bactérias atuais, é circular e não tem intrões; 2) ambos não têm núcleo organizado e, 3) a mitocôndria tem uma camada dupla de lipídeos, resultante da eventual fagocitose. (Gray, 1999).

<sup>106</sup> Conforme Souza (2005), tais mutações no mtDNA decorrem da ausência da enzima DNA polimerase, que, no DNA nuclear, atua como corretora de erros.

<sup>107</sup> Normalmente todas as moléculas de mtDNA são iguais no organismo (homoplasmia), contudo pode ocorrer heteroplasmia decorrente de mutações. Além disso, como consequência da poliploidia mitocondrial, durante a mitose, se verifica uma distribuição aleatória do mtDNA mutado para as células filhas durante a divisão celular (segregação mitótica aleatória). (Souza, 2005).

determinam necessariamente a ocorrência de doenças mitocondriais, vez que o tipo de mutação, os genes envolvidos e a quantidade dessas ocorrências, em razão do limiar de expressão fenotípica para cada tipo de tecido, em cada organismo é que vão determinar a expressão somática patológica ou não e qual o nível de acometimento nos seus variados graus. Este conjunto de fatores internos e externos à organela tornam muito difícil e complexo o diagnóstico das diversas doenças de base mitocondrial. Chama também a atenção a constatação de que certos fenótipos graves independem da abundância de mtDNA mutado. (Griffiths *et al.*, 2002; Nasseh *et al.*, 2001; Souza, 2005).

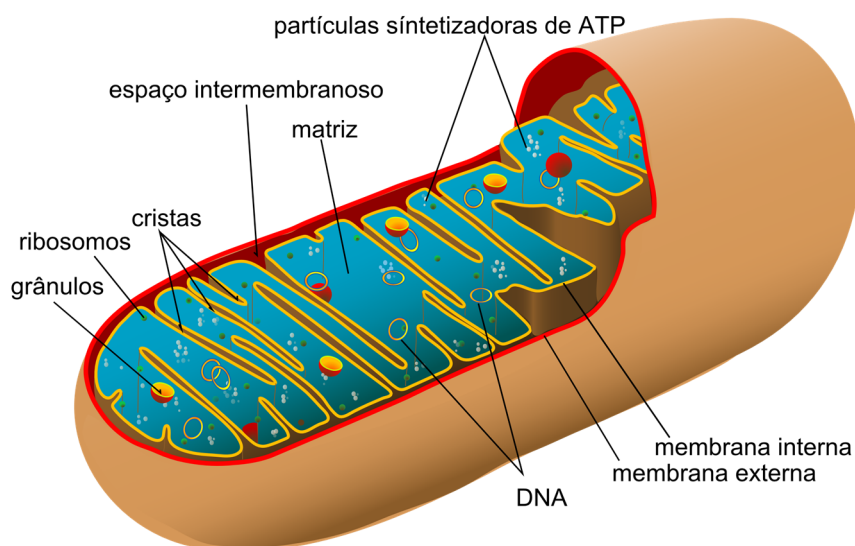


Figura 18 - Diagrama de mitocôndria humana

Fonte: Traduzido por Felipe Fontoura, baseado na imagem de Mariana Ruiz - Arquivo: mitochondrion animal <diagrama en.svg> mitocôndria.

Na Tabela 6 relacionamos as principais características do mtDNA e que o diferenciam do nDNA.



Tabela 6 - Particularidades do mtDNA

1	Circular e compacto
2	Possui seu próprio aparato para replicação, transcrição e tradução
3	Ausência de íntrons <sup>108</sup>
4	Sobreposição de alguns genes
5	Somente uma região promotora
6	Taxa de mutação 10 vezes maior do que no nDNA
7	Exposto permanentemente ao estresse oxidativo da CRM
8	Ausência de histonas (protetoras)
9	Ausência de mecanismos de reparo
10	Transmissão materna e ausência de recombinação
11	Polimorfismos frequentes
12	Diferente código genético
13	RNA autocatalítico (RNA com atividade enzimática)

Fonte: Souza (2005, p. 94).

Bianco e Montagna, citando Smeets *et al.* (2015), dizem que:

as doenças mitocondriais são os erros inatos de metabolismo mais comuns, posto que afetam >1 em 7.500 nascidos vivos [...]. Essas doenças podem causar abortos espontâneos e natimortos; morte em recém-nascidos, crianças e jovens adultos; ou sintomas severos com início na vida adulta. As manifestações clínicas podem ocorrer em um único tecido ou órgão afetado, mas um envolvimento multissistêmico ou de vários órgãos é mais comum e tem os maiores efeitos sobre órgãos com alta demanda de energia. (Bianco e Montagna, 2016, p. 192).

Visto ser uma área de investigação muito recente e em franco desenvolvimento, estudos diferentes indicam incidências diferentes para as doenças mitocondriais, no entanto parece haver um certo consenso na afirmação acima de que a mitocondriopatia seja o erro inato do metabolismo mais frequente e parece estar longe de poder ser classificada como rara. (Souza, 2005).

Dado o fato de que as doenças de origem genética são uma das razões principais que movem as pesquisas nesta área e que lhes serve de justificativa, em especial no uso de ferramentas de edição gênica como CRISPR, que de um lado possibilitem maior eficácia no que se refere ao diagnóstico e, de outro o desenvolvimento de curas efetivas, compreendê-las ajuda a ter uma ideia de quais são as características destas doenças e os desafios reais a serem superados no seu enfrentamento. Mesmo porque, o senso comum pode induzir a uma ideia equivocada de que a edição de genes para corrigir mutações ou defeitos na cadeia de nucleotídeos para fins terapêuticos não seja algo tão difícil de ser alcançado, bastando

---

<sup>108</sup> Éxons são sequências de nucleotídeos codificantes e íntrons são sequências não codificantes que separam os éxons. Os íntrons são parte do genoma, como citamos anteriormente, que alguns autores se referiam como lixo-genético.



um maior aprofundamento das pesquisas para se chegar a soluções reais. Por esta razão vamos nos deter um pouco mais nos detalhes destas doenças, mesmo porque elas ajudam a ter um quadro mais amplo da questão. Evidentemente que não se trata de buscar uma medida de comparação para coisas que são tão diferentes, uma vez que a diversidade e variabilidade dos fenômenos contidos nos genes e suas manifestações, muitas vezes únicas no fenótipo, desafiam qualquer tentativa nesse sentido.

Entre as doenças descritas como de origem mitocondrial de aparecimento esporádico estão a síndrome de Kearns-Sayre (SKS)<sup>109</sup>, a oftalmoplegia externa crônica progressiva (OECP)<sup>110</sup> e a síndrome de Pearson. Os estudos indicam que um rearranjo do mtDNA, decorrente de deleção ou duplicação, seja a causa mais comum tanto da SKS como da OECP e da síndrome de Pearson (vide Figura 19). Tal rearranjo, uma mutação espontânea, parece ocorrer após a fase de oócito, depois da fertilização, o que sugere não estar relacionada à herança materna. (Nasseh *et al.*, 2001).

As mutações mitocondriais nas posições alélicas em A3243G<sup>111</sup>, a A8344G e a T8996G (vide Figura 19 e Figura 20) tem sido relatadas como as principais causadoras de doenças de herança materna<sup>112</sup> e incluem:

1. Epilepsia mioclônica e miopatia com RRF (MERRF<sup>113</sup> - *myoclocic epilepsy and ragged-red fiber*);

---

<sup>109</sup> Considerada a síndrome mais grave e de manifestação tardia, por volta dos 20 anos de idade, envolve as seguintes manifestações: oftalmoplegia e retinite pigmentosa, incluindo ainda: ataxia, hiperproteinorria ou bloqueio completo cardíaco. Em alguns casos incluem-se ainda: diabetes mellitus (DM), surdez e sinais de neurodegeneração. Na fase infantil foram registradas ocorrência de síndrome de Pearson que incluem anemia sideroblástica, leucopenia, trombocitopenia e insuficiência pancreática exócrina, com variados graus de gravidade e podendo levar à morte. Uma vez acometidos pela síndrome de Pearson, os portadores sobreviventes acabam desenvolvendo também a síndrome de Kearns-Sayre. (Nasseh *et al.*, 2001).

<sup>110</sup> Considerada de gravidade intermediária, a OECP, em geral tem manifestação tardia (adultos jovens) e progressiva, inclui entre os sintomas a oftalmoplegia, ptose e discreta fraqueza muscular apendicular. (Nasseh *et al.*, 2001).

<sup>111</sup> A mutação em A3243G e rearranjos do mtDNA, podem também estar relacionadas à ocorrência de diabetes mellitus. (Nasseh *et al.*, 2001).

<sup>112</sup> Souza (2005), a partir de estudos posteriores relaciona mutações em outros genes causadoras de síndromes mitocondriais, tais como A4317G, A4269G, A4300G, 3303T, 3260G, causadoras de Miopatia com cardiomiopatia hipertrófica; A1555G, causadora de Surdez não sindrômica, entre outras. Isto reflete por um lado a evolução do conhecimento nesta área e por outro, como em geral reconhecem os pesquisadores, que muito há por descobrir nesta área.

<sup>113</sup> Entre as principais manifestações clínicas de MERRF estão: epilepsia, a ataxia cerebelar e a miopatia, demência, atrofia óptica, degeneração dos tratos corticoespinhais, neuropatia periférica,

2. Encefalomiopatias mitocondriais, acidose láctica e episódios similares a acidentes vasculares cerebrais (MELAS<sup>114</sup> - *mitochondrial encephalomyopathy, latic acidosis and stroke-like episodes*);

3. Doença de Leigh e NARP<sup>115</sup> (neuropatia, ataxia, retinite pigmentosa);

4. Neuropatia óptica hereditária de Leber (LHON<sup>116</sup> - Leber's hereditary optic neuropathy). (Nasseh *et al.*, 2001).

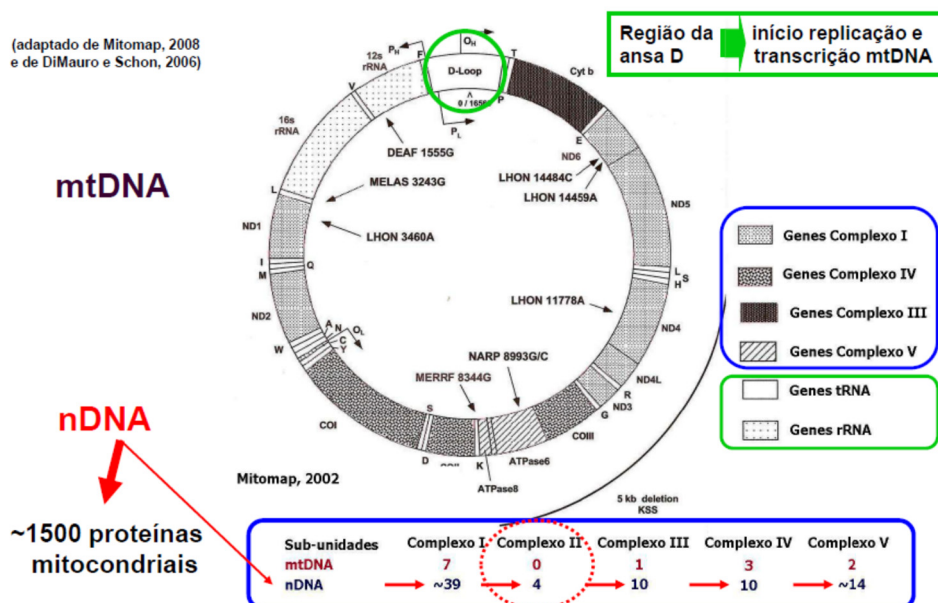


Figura 19 - Regiões alélicas do mtDNA relacionadas a síndromes e atividades dos Complexos I, II, III e IV.

Fonte: D'Oliveira (2014).

surdez, disfunção tubular proximal, cardio-miopia, acidose láctica e hiperalaninemia. (Nasseh *et al.*, 2001).

<sup>114</sup> Acidente vascular cerebral em pacientes antes dos 45 anos tem sido relatado como diferencial para o diagnóstico de pacientes portadores de MELAS. Em geral tais AVCs não se restringem a determinado território vascular, podendo atingir tanto artérias pequenas como grandes e eventualmente relacionadas a convulsões e/ou enxaqueca. (Nasseh *et al.*, 2001).

<sup>115</sup> Mutações em T8993G ou T8993 no gene da ATPase 6 do mtDNA, quando ocorre em mais de 60% a 70% do tecido afetado, tem sido relatadas como limiar de expressão fenotípica para a manifestação da doença de Leigh; quando o limiar é menor, se manifesta como NARP. Dentre os sintomas estão anormalidades de nervos cranianos, disfunção respiratória e ataxia, bem como atraso do desenvolvimento neuropsicomotor, hipotonia, crises convulsivas, sinais piramidais, cardiopatia hipertrófica, níveis elevados de lactato de alanina no sangue e/ou urina e retinite pigmentosa. No caso de NARP, uma doença multissistêmica, os sintomas relatados incluem neuropatia sensitiva, ataxia, crises convulsivas, demência e retinite pigmentosa. (Nasseh *et al.*, 2001).

<sup>116</sup> Foram relatadas oito mutações relacionadas a LHON, contudo apenas três (em A11778G, G3460A e T14484C) tem sido associadas a manifestações de sintomas que incluem: telangiectasias ao redor da papila óptica e edema das fibras nervosas ao redor do disco óptico. A ocorrência de outros sintomas como cegueira pode variar de acordo com a mutação envolvida; se decorrente de mutação em A11778G, a recuperação é inferior a 8% e atinge prevalentemente pessoas do sexo masculino, sendo que destes, entre 50% a 80% perdem a visão, ao passo que no sexo feminino de 8% a 32% ficam cegas; se em G3460A, com prevalência também para o sexo masculino, 22% podem recuperar a visão; se em T14484C, 40% dos afetados podem recuperar a visão. (Nasseh *et al.*, 2001).

As doenças classificadas como de Herança Mendeliana (que relacionam alguma disfunção entre o DNA mitocondrial e o DNA nuclear) são<sup>117</sup>:

1. defeitos em genes codificadores de proteínas estruturais da mitocôndria [...];
2. defeitos diretos em genes codificadores de enzimas da cadeia respiratória;
3. defeitos em genes codificadores necessários para a montagem ou a importação de proteínas mitocondriais;
4. defeitos na sinalização intergenômica [comunicação entre o núcleo e a mitocôndria]. (Nasseh *et al.*, 2001).

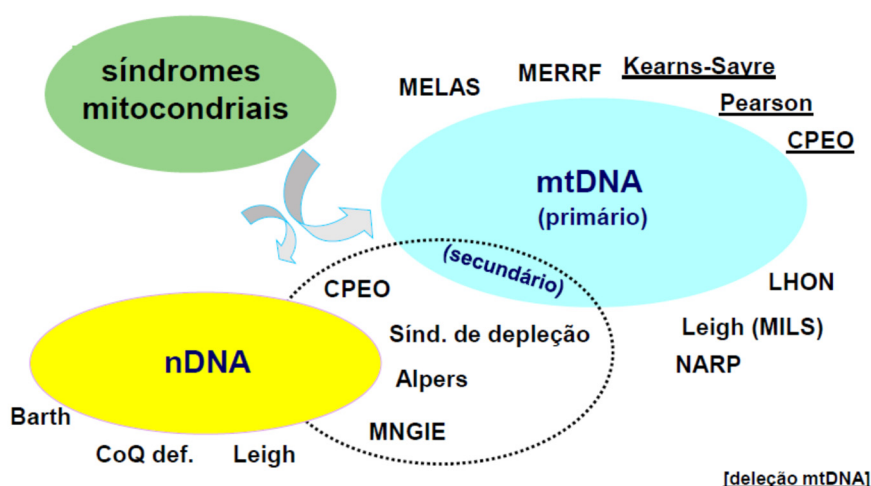


Figura 20 - Doenças e síndromes mitocondriais segundo a origem x relação genômica  
Fonte: D'Oliveira (2014).

A identificação das doenças relacionadas às mitocôndrias é tão recente quanto a evolução dos conhecimentos em genética molecular e muito há por avançar, tanto no conhecimento e na compreensão das mesmas como no entendimento acerca dos mecanismos genéticos, moleculares, metabólicos e epigenéticos envolvidos, bem

<sup>117</sup> Envolvendo Complexos I, II e IV da cadeia respiratória e diferentes genes, os relatos incluem as seguintes patologias: doença de Leigh; acidose láctica neonatal; leucodistrofia fatal com epilepsia mioclônica; Síndrome de Kearns-Sayre (SKS); fraqueza muscular; cardiomiopatia hipertrófica; atrofia óptica com ataxia cerebelar; paraganglioma hereditário (tumores vasculares benignos na região do pescoço, cabeça e principalmente carótida); encefalomiopatias com deficiências da COX (citocromo-oxidase); heterotopia, gliose, atrofia e proliferação de vasos capilares; hipotonia, ataxia, miopatia; convulsões; redução na atividade da COX no músculo, nos linfócitos e nos fibroblastos. (Nasseh *et al.*, 2001).

como da complexa dinâmica dos processos de acometimento do organismo. (Souza, 2005). Nasseh chama a atenção para o fato de que:

[...] a apresentação clínica das doenças mitocondriais é muito diversa e pode se manifestar simplesmente como uma intolerância ao exercício e até como doenças multissistêmicas acometendo o sistema nervoso central e periférico e os sistemas endócrino, hematopoiético, gastrointestinal, óptico, etc. (Nasseh *et al.*, 2001, p. 66).

Na *Tabela 7* listamos as principais manifestações clínicas relatadas e que complementam o entendimento do que está envolvido nas pesquisas com edição gênica do mtDNA. Além disso, cumpre lembrar que o diagnóstico clínico da maior parte destas doenças é muito difícil – o que é especialmente relevante para morbidades de maior gravidade, algumas delas classificadas como raras -, sendo que o estudo genético, embora promissor ainda necessita mais pesquisas que permitam superar as divergências inclusive de interpretação<sup>118</sup>. Acrescente-se que tais doenças não dispõem de cura e os poucos tratamentos disponíveis, via de regra para atenuação dos sintomas, tem eficácia muito variável, dependentes do grau de acometimento clínico dos pacientes e do tipo de resposta clínica para cada caso individual.

Tabela 7 - Principais manifestações clínicas das doenças mitocondriais

<b>Tecidos</b>	<b>Sinais/sintomas</b>
<b>Sistema nervoso central</b>	Encefalopatia, hipotonia de tronco, convulsões, mioclonias, regressão neurológica, ataxia cerebelar, enxaqueca, leucodistrofia, atrofia cerebral difusa, depressão, demência, apneias recorrentes, letargia, episódios semelhantes a um AVC, alterações em TC e/ou RNM com/sem espectroscopia.
<b>Nervos periféricos</b>	Miopatia, neuropatia sensorio-motora.
<b>Muscular</b>	Fraqueza, dor muscular, intolerância aos exercícios, mioglobínúria, câimbras.
<b>Medula óssea</b>	Anemia, neutropenia, trombocitopenia, síndrome mielodisplásica.
<b>Oftalmológico</b>	Ptose palpebral, oftalmoplegia externa progressiva, limitação da movimentação ocular, catarata, atrofia óptica, degeneração pigmentar da retina.
<b>Auditivo</b>	Surdez neurosensorial, ototoxicidade por aminoglicosídeo.
<b>Craniofacial</b>	Microcefalia, face arredondada, fronte ampla, pescoço curto.

<sup>118</sup> Souza (2005), baseado nos trabalhos de McFarland, Taylor e Turnbull (2002) e de Zeviani e Donato, Di (2004), menciona que: “recentes trabalhos, demonstram que a investigação molecular é falha em identificar mutações em aproximadamente 50% dos pacientes adultos e 90% dos pediátricos com doenças mitocondriais, e que somente 5% das mutações estão no mtDNA”.

<b>Hematopoiético</b>	Anemia sideroblástica.
<b>Endócrino</b>	Baixa estatura, deficiência de GH, diabetes mérito insulino dependente ou não insulino dependente, hipotireoidismo, hipoparatiroidismo, hipopituitarismo, falência gonadal.
<b>Cardíaco</b>	Cardiomiopatia hipertrófica, dilatada, bloqueio cardíaco completo, bloqueio da condução ventricular, síndrome de pré-excitação.
<b>Gastrointestinal</b>	Diarreia crônica, vômitos recorrentes, anorexia, pseudo-obstrução intestinal, constipação, disfunção hepatocelular, falência hepática, acidose láctica.
<b>Renal</b>	Tubulopatia proximal, síndrome nefrótica, síndrome de Fanconi, falência renal.

Fonte: adaptado de Nasseh *et al.* (2001, p. 66) e Souza (2005, p. 102).

Nota: AVC: acidente vascular cerebral, TC: tomografia de crânio, RNM: Ressonância nuclear magnética, GH: hormônio de crescimento

Como vimos, as mitocôndrias são organelas compostas de um DNA muito específico, diferente do nuclear e cumprem função vital para a respiração celular e a homeostase. Estudos indicam que elas participam do processo de apoptose, neurodegeneração e envelhecimento e podem representar um dos primeiros e mais significativos avanços para a tão esperada terapia gênica. Conforme citamos no item 2.1.3, CRISPR vem sendo utilizada na pesquisa básica como marcador molecular para a identificação dos genes envolvidos nas doenças mitocondriais e a técnica de edição denominada Editores de Base (BE) vem sendo experimentada com vantagens para correção de algumas destas doenças vez que decorrem, como vimos, de trocas de bases nitrogenadas (Adenina– Timina e Guanina–Citosina).

## 7.5 DNA NUCLEAR, RNA E MICRO-RNA

Visto que já tratamos de duas organelas importante (plasmídeos e mitocôndrias) para a compreensão de que quando falamos de DNA e edição gênica, estamos considerando o conjunto celular e não apenas os cromossomos nucleares, podemos agora tratar do DNA nuclear (nDNA), onde se encontra o maior e principal conjunto de nucleotídeos e o principal fator para a formação fenotípica da vida.

Uma vez que também já tratamos de alguns aspectos históricos da genética, ainda que superficialmente, quando tratamos de evolução, nos limitaremos aqui apenas a complementar alguns fatos mais específicos à guisa de ilustrar o quão recente é o seu desenvolvimento e o quão vastos são os desafios ainda por serem superados. Embora registros históricos deem conta de que de alguma forma os gregos antigos como Hipócrates, Anaxágoras e Aristóteles já se ocupavam de

conhecer as origens e os mecanismos da hereditariedade, é a partir da biometria de Galton (1822-1911) (a quem credita-se o conceito eugênico de melhoramento da espécie humana) e do trabalho de Mendel (1865) – com os experimentos de hibridização de plantas – que levarão ao conceito de genes, seguidos mais tarde por outros, que a área ganha um novo impulso e a base do conhecimento que se tem hoje. (Cont, Del, 2008; Vogel e Motulsky, 2000). Johann Friedrich Miescher, bioquímico alemão, em 1869 descobre um composto de natureza ácida, rico em fósforo e nitrogênio, caracteristicamente ácido, que Albrecht Kossel, em 1880 vai demonstrar que continha bases nitrogenadas em sua estrutura. Em 1889, Richard Altmann comprova a natureza ácida deste composto, atribuindo-lhe a denominação de ácido nucléico. Maurice Wilkins e Rosalind Franklin (1951), a partir de trabalhos com difração de raios-x obtém a primeira imagem do DNA em formato de dupla hélice. Os trabalhos de Erwin Chargaff e colaboradores, entre 1949 e 1953, permitiram uma melhor compreensão das bases nitrogenadas (adenina, timina, citosina e guanina) do DNA e neste mesmo ano (1953), Watson e Crick apresentam o modelo estrutural de dupla hélice do DNA que lhes rendeu um prêmio Nobel em 1962. (Cruz, 2011; Ferreira, 2016).

A partir destes estudos pôde-se saber que o diâmetro externo da dupla hélice é de aproximadamente 2 nm e que uma volta completa contém 10 pares de base e corresponde a 3,4nm, sendo, portanto, de 0,34 nm a distância entre dois pares de bases vizinhas. Soube-se também que estas bases são formadas em duplas, guanina com citosina e timina com adenina, ligadas respectivamente por duas e três pontes de hidrogênio, formando nucleotídeos – cada nucleotídeo é composto de uma base nitrogenada ligada a uma pentose, e esta por sua vez, ligada a um fosfato. Estes nucleotídeos formam duas cadeias polinucleotídeas complementares entre si, unidas também por pontes de hidrogênio. As duas cadeias polinucleotídicas tem polaridades opostas e, por isso são invertidas (antiparalelas): as ligações fosfodiester estão orientadas no sentido 3' → 5', (do carbono 3' de um nucleotídeo ao carbono 5' do nucleotídeo adjacente), enquanto que na fita complementar a orientação é inversa, 5' → 3' (do carbono 5' ao 3'). Não obstante, a presença de uma hidroxila livre do carbono-5 da primeira pentose e na outra, a hidroxila livre do carbono-3 da última pentose determinam que o crescimento do DNA se faça na direção de 5' para 3' (vide Figura 16. O pareamento das bases se dá sempre entre uma purina e uma pirimidina (adenina com timina e citosina com guanina). (Cruz, 2011). Dessa forma,

estruturalmente as bases nitrogenadas (parte hidrofóbica) se situam no centro e o grupo fosfato e o açúcar (parte hidrofílica) ficam na parte exterior da molécula.

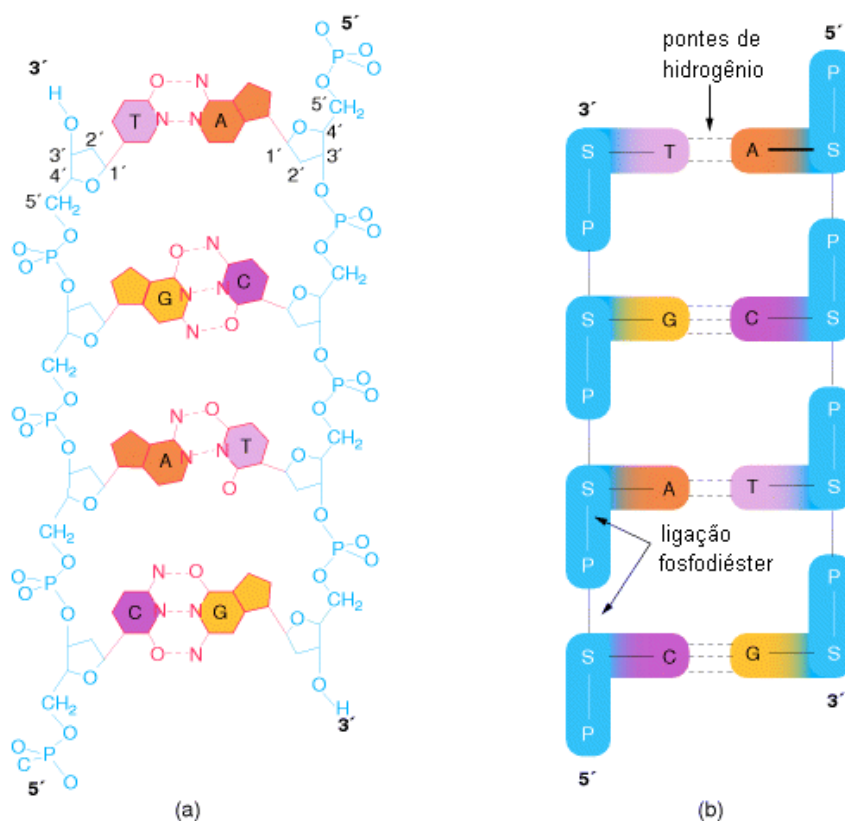


Figura 21 - Pontes de hidrogênio e ligações fosfodiéster

Fonte: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80/books/bookres.fcgi/mga/ch2f2.gif>>; Griffiths *et al.* (2002, p. 5).

A forma espiralada do DNA, que é a forma compacta da molécula, é resultado da ação de proteínas nucleares chamadas histonas que tem a capacidade de empacotar a molécula. (Fantappie, 2013). A superfície externa da molécula de DNA (parte hidrofílica) é irregular e forma 2 sulcos ou depressões, de tamanhos diferentes, que giram ao longo de todo o seu comprimento. Estes sulcos são importantes porque é justamente neles que ocorrem as interações entre o DNA e as proteínas (vide Figura 17). (Cruz, 2011). São também a partir destes sulcos que ocorrerão as interações CRISPR-Cas9.

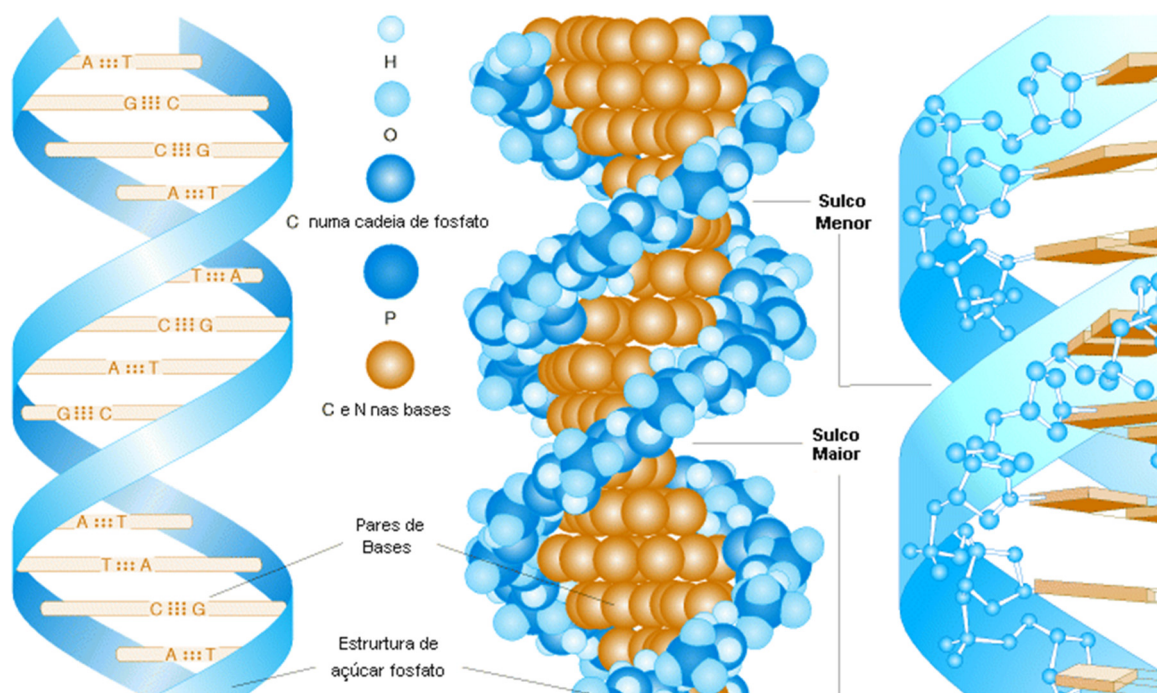


Figura 22 – Forma compacta da molécula de DNA com os sulcos onde ocorrem as interações com proteínas

Fonte: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80/books/bookres.fcgi/mga/ch2f3.gif>>; Griffiths *et al.* (2002, p. 229).

A partir dos estudos de Watson e Crick em 1953, teve-se também a compreensão de como o DNA se duplica, pelo que se convencionou chamar de replicação semiconservativa, em que a dupla fita se abre e cada uma delas servirá de molde para produzir uma cópia inversa de si mesma, originando duas moléculas completas de DNA idênticas entre si (vide Figura 18). Nesse processo, uma enzima denominada DNA polimerase realiza a tarefa de abrir a fita matriz para a DNA ligase fazer o pareamento dos nucleotídeos recrutados aos nucleotídeos da mesma (vide Figura 13). (Cruz, 2011).

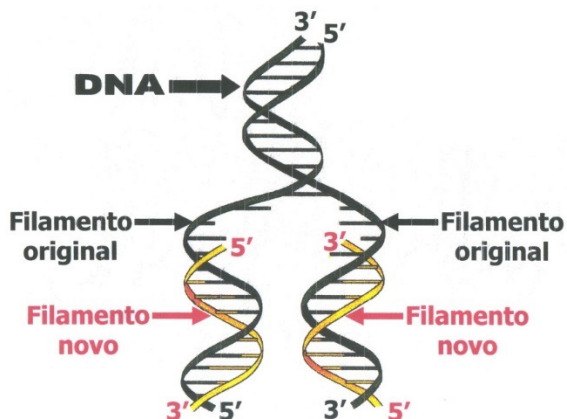


Figura 23 – DNA, replicação semiconservativa

Fonte: <<https://biologiamolecular14.wordpress.com/2015/09/03/replicacao-do-dna/>>



Do ponto de vista físico-químico, em  $\text{pH} = 7$  e temperatura ambiente, o DNA é uma solução altamente viscosa. Quando submetido a temperaturas elevadas, variações da constante dielétrica e variações extremas de PH, ocorre o “esticamento” da espiral e o rompimento das pontes de hidrogênio que ligam as duas fitas. (Cruz, 2011). Os genes são sequências de pares de base, nucleotídeos, codificantes e não codificantes denominados respectivamente éxons e íntrons e formam unidades que participam da expressão de características fenotípicas ou da síntese de proteínas. Os alelos são formas alternativas dos pares de base que afetam a expressão do gene. Como cada cromossomo é composto por duas fitas de DNA, ou seja, duas cadeias de nucleotídeos, cada uma contém uma sequência de alelos cujo par homólogo se situa da outra fita. (Salman, 2007).

Em geral, o DNA nuclear controla quatro funções básicas: 1) hereditariedade; 2) reprodução; 3) homeostasia e 4) função celular. No entanto ele não realiza a síntese de proteínas, para tanto ele sintetiza o RNA (ácido ribonucleico) por um processo denominado transcrição, a partir da ação de uma enzima denominada RNA polimerase, que abre a dupla fita. A constituição do RNA se difere do DNA apenas no açúcar, que é uma ribose em substituição uma desoxirribose, ou seja, uma uracila (U) no lugar de uma timina. Desta forma, as bases púricas do RNA e do DNA são as mesmas, porém as bases pirimídicas são diferentes. Assim, DNA e RNA são diferentes na pentose e na base nitrogenada do nucleotídeo. Responsável pela síntese de proteínas, o RNA é constituído por apenas uma cadeia de nucleotídeos de fita simples, bastante menor (uma para cada tarefa) e não tem forma helicoidal, embora durante o pareamento, possa assumir tal forma. Três tipos de RNA participam da síntese de proteínas: a) RNA mensageiro (RNAm): contém a informação (a cadeia de nucleotídeos molde) para a síntese, representa cerca de 4% do RNA celular total; b) RNA transportador (RNAt): transporta os aminoácidos para que ocorra a síntese, corresponde a 10% do RNA total da célula; c) RNA ribossômico (RNAr): contém os componentes da maquinaria de síntese presente nos ribossomos (organela localizada no citoplasma), correspondem a 85 % do RNA total da célula. (Cruz, 2011).

Nessa maquinaria tem-se ainda as enzimas DNA polimerases I, II e III: a DNA polimerase I, embora não replique a maior parte do DNA, tem papel crítico na mesma e na correção do DNA, a DNA polimerase II participa do reparo do DNA e a DNA polimerase III realiza cópias do DNA. Todas elas necessitam de um primer, um molde de cadeia com uma ligação 3'- OH livre que localiza o lócus na fita onde correrá o

início do pareamento. Para início do processo de síntese ou de duplicação do DNA há necessidade de “esticar” e abrir a dupla fita, o que é feito por uma enzima DNA-girase que “estica” a fita e outra, a DNA-helicase que abre a mesma, rompendo as pontes de hidrogênio. Uma terceira enzima, a SSB mantém as fitas separadas para que ocorra a replicação do DNA. No caso do RNA, o primer que cumpre a tarefa de iniciar a polimerização é chamado primer de RNA e a enzima que catalisa sua síntese é denominada primase do DNA (vide Figura 19). (Cruz, 2011). Não iremos aqui avançar nos detalhes desta maquinaria, nos sendo suficiente saber pelo menos dois pontos: 1º) que esses primers, as sequências de genes de interesse, bem como plasmídeos e vetores virais ou bacterianos, conforme cada projeto de pesquisa, podem ser adquiridos no mercado para compor a ferramenta de edição gênica de interesse, e 2º) as ferramentas de edição são basicamente ferramentas que atuam em algum ponto desses processos para induzir a determinado resultado, seja ele uma alteração na expressão gênica, o silenciamento da mesma (*knockout*) ou a inclusão de uma característica que não existia.

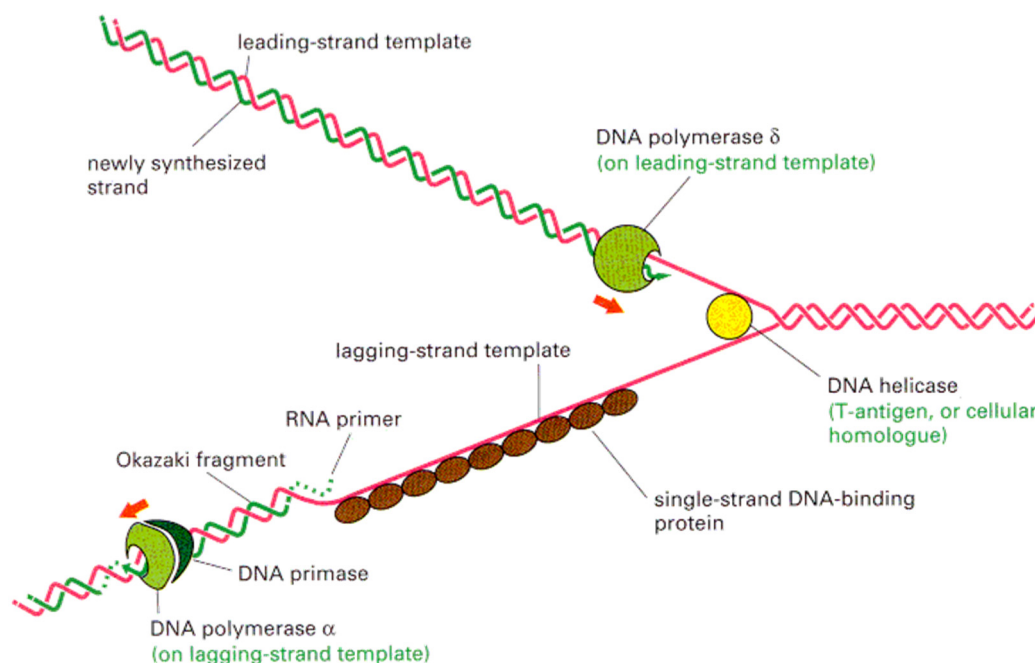


Figura 24 – Replicação do DNA

Fonte: Escola Superior de Biotecnologia - Universidade Católica de Portugal - <[http://members.tripod.com/never\\_clone\\_alone/at2/at2.htm](http://members.tripod.com/never_clone_alone/at2/at2.htm)>

Em geral, várias técnicas laboratoriais como a imuno-histoquímica e a citometria de fluxo, assim como as técnicas de edição gênica, são ferramentas de manipulação dessa maquinaria que opera o DNA e o RNA.

Outra estrutura interessante são os microRNAs<sup>119</sup> (miRNAs), exossomas (*exosomal shuttle RNA*) formados a partir de vesículas intracelulares que contém pequenas cadeias de RNA, entre 17 e 25 nucleotídeos<sup>120</sup>, não codificadores de proteínas, de atuação pós-transcricional, com capacidade de emparelhar à região 3' do RNA mensageiro-alvo, portanto no final da cadeia molde de transcrição, de modo a impedir o processo de síntese relacionada ou clivando o RNA mensageiro (mRNA), sem haver inclusive necessidade de pareamento completo para tanto. Estudos já identificaram mais de 460 genes de miRNA no genoma humano e estima-se que sejam mais de 1000<sup>121</sup>. Sintetizados pelo DNA, são expelidos do citoplasma para atuar em outras células como reguladores da expressão gênica. Estima-se que um único miRNA seja capaz de regular 200 RNAs, evidenciando funções totalmente diferentes. (Costa e Pacheco, 2012; Ricarte Filho e Kimura, 2006).

Estudos relacionam estas moléculas a uma grande variedade de processos fisiológicos e patológicos (vide alguns exemplos na Tabela 8), dentre eles na regulação da expressão gênica na proliferação, diferenciação (inclusive de células tronco germinativas) e desenvolvimento celular, apoptose, sistema imune, oncogênese, neurogênese e gliogênese, interação entre vírus e célula hospedeira, metabolismo, conformação cromossômica, entre outros. Parecem ter atuação temporal diferencial e específica para cada tecido, dependo inclusive do estágio de desenvolvimento celular e/ou tissular. Simplificando, os miRNAs são mecanismos extracelulares circulantes capazes de interagir no citoplasma de células receptoras e nelas desativar uma atividade específica do mRNA ou degradá-lo. Diversos estudos relatam mais de 800 miRNAs em animais, tendo sido identificados que alguns são altamente conservados entre vertebrados e invertebrados, o que pode sugerir algum

---

<sup>119</sup> O conhecimento dos miRNAs é muito recente. O locus *lin-4* de *C. elegans* foi a primeira molécula desse tipo descrita por Lee, Feinbaum e Ambrost (1993).

<sup>120</sup> Diferentes autores referem tamanhos diferentes das cadeias nucleotídeas do miRNAs. (Costa e Pacheco, 2012; Delella *et al.*, 2012; Ricarte Filho e Kimura, 2006).

<sup>121</sup> Existe um interessante Banco de Dados denominado miRBase para pesquisa disponível em <<http://www.mirbase.org/index.shtml>>, no qual estão organizados todos os miRNA conhecidos, organizados por região genômica, *cluster*, por tecido de expressão, por sequências precursoras de *hairpin* ou miRNAs maduros e por espécie e inclui uma vasta quantidade de informações genômicas de interesse para pesquisa. O miRBase é gerenciado pelo laboratório Griffiths-Jones <<http://sgjlab.org/>>, Faculdade de Biologia, Medicina e Saúde da Universidade de Manchester <<https://www.bmh.manchester.ac.uk/>> e financiado por BBSRC (Biotechnology and Biological Sciences Research Council - Conselho de Pesquisa de Biotecnologia e Ciências Biológicas) do Reino Unido <<https://bbsrc.ukri.org/>>.

nível de hereditariedade. (Costa e Pacheco, 2012). Neste sentido, muitas pesquisas têm relacionado os miRNAs à epigenética e apesar da convencionalidade de que os processos iniciais da embriogênese “limpariam” todas as informações adquiridas contidas no DNA, de modo a garantir na hereditariedade um código “zerado”<sup>122</sup>, bem como de que informações em células não germinativas não seriam transferidas para as gerações futuras. Alguns pesquisadores tem indicado mecanismos como estes como herdáveis, ao menos nas primeiras gerações subsequentes. Trataremos da epigenética um pouco mais adiante, motivo pelo qual nos é suficiente por ora apontar esta questão.

Tabela 8 - Exemplos de MicroRNAs associados à biologia endócrina e câncer.

miRNA	Associação
miR-375	Secreção de insulina
miR-14	Metabolismo de adipócitos
miR-143	Diferenciação de adipócitos
miR-15/miR-16	Frequentemente deletados ou inibidos em leucemia linfocítica crônica e adenomas hipofisários
miR-143, miR145	Diminuídos em câncer colorretal e linhagem celular de câncer linfóide, mama, próstata e colo uterino
Let-7	Inibição da diferenciação e proliferação celular; diminuído em câncer de pulmão
miR-155	Aumentado em linfomas e câncer de mama
miR-221, miR-222, miR-146	Aumentados em câncer de tireoide
miR-21	Fator anti-apoptótico; aumentado em glioblastoma e câncer de mama
miR-17-92	Aumentado em linfomas e carcinoma de pulmão

Fonte: adaptado de Ricarte Filho e Kimura (2006).

Ricarte e Kimura chamam a atenção para interessante relação intrínseca entre o DNA e os miRNAs:

Uma característica peculiar dos miRNAs consiste no fato de que grande parte de seus genes está alinhada no genoma, formando nichos denominados de *cluster*. Neste caso, um grupo de genes forma um único transcrito primário que originará diversos miRNAs maduros após processamento. (Ricarte Filho e Kimura, 2006).

<sup>122</sup> Neste aspecto, Youngson e Whitelaw chamam a atenção para o fato de que as etapas iniciais da embriogênese de animais e plantas são diferentes: “Nos mamíferos, as células germinativas primordiais (PGCs) são derivadas do epiblasto e surgem na faixa primitiva posterior durante a gastrulação. Portanto, há um período extremamente curto para que alterações epigenéticas sejam incluídas na linha germinativa. Em contraste, nas plantas não há separação precoce de germinal e soma e os gametas são derivados do tecido vegetativo após a maior parte do desenvolvimento estar completo. Isso pode fornecer às plantas uma maior oportunidade de herança suave (herança epigenética transgeracional) do que os mamíferos”. (Youngson e Whitelaw, 2008, p. 235, tradução nossa).

Delella *et al.* (2012) indica que a maioria dos miRNAs humanos tem origem em íntrons - aquela região genômica do DNA que já citamos em outros momentos e que já foi considerada por alguns pesquisadores como “lixo-genético” - e controlam mais de 60% dos genes codificadores de proteínas.

Com efeito, a biogênese, os mecanismos de ação dos miRNAs e a elevada complexidade intrínseca ao fenômeno de regulação da expressão gênica tecido-específica, tanto em plantas como em animais, são ainda muito pouco conhecidos e compreendidos. Os diversos estudos que relacionam estes exossomos a patologias não são conclusivos no sentido de esclarecer se os mesmos participam das causas ou se são efeitos, ou se ambos<sup>123</sup>. De toda forma, o fato de existir uma diversidade substancial de nucleotídeos circulantes de RNA fora do meio celular com funções específicas, com a tarefa de interferir na expressão gênica em células diversas das que foram gerados, não deixa de ser um achado de alguma relevância a ser considerado em edição gênica. Possivelmente isto também tenha algum impacto para pesquisas *in vivo*, onde a dinâmica e complexidade sistêmica de um organismo completo e vivo não podem ser reproduzidas *in vitro*. Trataremos desta questão mais adiante, não obstante, convém apontá-la desde logo.

## 7.6 EPINEGÉTICA

O Projeto Genoma Humano (PGH), como dissemos anteriormente, trouxe algumas surpresas, uma delas é a de que ao final, não houve final. Chegou-se a imaginar que o sequenciamento completo do genoma humano resultaria no entendimento da gênese da vida e de todas as doenças, tanto as de origem genética como as adquiridas ao longo da vida, ao ponto de ser possível “reprogramar” genes defeituosos; ativar ou desativar genes de interesse, como o da memória, da inteligência ou da força muscular e muito mais, imaginou-se que seria possível “editar” um ser humano completo, perfeito genética, fenotípica, funcional e socialmente. Mas,

---

<sup>123</sup> Ricarte e Kimura exemplificam esta ambiguidade da seguinte forma: “em um modelo de camundongos transgênicos, a expressão do cluster miR-17-92 adicionada à expressão do oncogene MYC induziu a progressão de linfomas de células B. Mostrou-se também que a introdução de miR-17-92 intensifica a proliferação das células de câncer de pulmão. Interessantemente, os alvos preditos para o cluster miR-17-92 incluem os genes supressores de tumor PTEN, associados com a Síndrome de Cowden, e RB2, membro da família da proteína Retinoblastoma”. (Ricarte Filho e Kimura, 2006, p. 1105).

como “o diabo mora nos detalhes”, é nos detalhes que o projeto vem sendo desafiado desde então. Um desses desafios é a chamada epigenética<sup>124</sup>.

Afinal, como explicar que organismos (animais ou plantas) originários de uma mesma matriz genética, até mesmo com um código genético idêntico, possam ser diferentes? Como explicar que algumas dessas diferenças possam se manifestar em gerações subsequentes, apesar de o DNA se preservar idêntico às matrizes originais? Haveria uma herança para além dos genes? Enfim, estaria realmente Lamarck e sua teoria da herança dos caracteres adquiridos totalmente equivocado? (Bonduriansky e Day, 2009; Genetic Science Learning Center, 2013; Jablonka e Lamb, 1989). Nas palavras de Alexander Olek, diretor executivo da Epigenomics AG: “[o Projeto Genoma Humano] forneceu o projeto para a vida, mas o epigenoma vai nos dizer como essa coisa toda é executada” (“[*The Human Genome Project*] provided the blueprint, for life but the epigenome will tell us how this whole thing gets executed”). (Bradbury, 2003, p. 316, tradução nossa).

Antes de avançarmos nas especificidades desta questão, convém sinalizar, ao menos de passagem, a importância deste tema para nossa discussão sobre edição gênica: em geral o propósito de editar genes é garantir que ele expresse no fenótipo as características que se deseja ou não expresse aquelas que não se deseja, não se excluindo aí a possibilidade de acrescentar genes alienígenas para introduzir novas características que não existiam originalmente. Mas e se essa expressão sofrer influência de outros fatores para além do arranjo de nucleotídeos que compõe os

---

<sup>124</sup> No intuito de, a partir do mapeamento do código genético (do PGH), avançar na compreensão de como ele é expresso, como ele funciona e ao mesmo tempo talvez superar a divisão ocorrida no Projeto Genoma Humano entre a iniciativa pública e privada, alguns esforços para formação de grandes redes de pesquisa têm sido apresentados desde então por cientistas e instituições/empresas de diversos países. A seguir citamos algumas delas a título de exemplo: uma é o Projeto Epigenoma Humano (HEP - Human Epigenome Project), do Instituto Wellcome Trust Sanger (Hinxton, Reino Unido) e da Epigenomics AG (Berlim, Alemanha); outro consórcio agrega esforços de The Wellcome Trust Sanger Institute (Reino Unido), Epigenomics AG (Alemanha/EUA) e Centre National de Génétique (França). Um terceiro esforço foi materializado no IHEC (Internacional Human Epigenome Consortium), que reúne os seguintes países e instituições: Canadá, Canadian Institutes of Health Research (CIHR); União Europeia, European Commission (EC); Alemanha, Federal Ministry of Education and Research (BMBF), Project Management Agency within the German Aerospace Center (PT-DLR); Hong Kong, Hong Kong University of Science and Technology (HKUST); Japão, Japan Agency for Medical Research and Development (AMED); Singapura, The Genome Institute of Singapore (GIS); Coreia do Sul, National Institute of Health, Korea; USA, National Institutes of Health (NIH), Roadmap Epigenomics Program, National Human Genome Research Institute (NHGRI), ENCODE Project (Encyclopedia Of DNA Elements, só para citar algumas. (Abbott, 2010; Bernstein *et al.*, 2010; Bradbury, 2003; ENCODE Project Consortium, 2012; Epigenome NoE, 2004; ICGC, 2011; IHEC, 2010; Roadmap Epigenomics Project, 2007).

genes? E se estes fatores, além de circunstanciais, forem temporais, ou seja, possam variar ao longo do tempo como resultantes de uma equação *dinâmica do indivíduo x dinâmica das mudanças no ambiente*, em cada situação e em cada momento, quase como um processo de “aprendizado”<sup>125</sup>? E se estas características puderem ser armazenadas de alguma maneira e transmitidas por herança para as gerações futuras, a chamada herança epigenética transgeracional<sup>126, 127</sup>, ainda que possam não ser estáveis ou permanentes? (Bonduriansky e Day, 2009). Responder tais questões tem vários impactos, dos quais ao menos dois nos interessam: um deles diz respeito à teoria da evolução, que já tratamos algumas páginas atrás, o outro diz respeito aos processos de edição gênica, sobre o qual a teoria tem reflexos profundos. Neste sentido, a epigenética pode representar um viés fundamental na delimitação do limiar que separa edição gênica em linhagem somáticas e germinativa.

Também convém assinalar que está é uma área de estudo recente e em pleno desenvolvimento, sobre a qual pairam controvérsias intensas e imensas. Seus

---

<sup>125</sup> Weaver e colaboradores realizaram experimento com ratos em que foi observado que variações no comportamento materno servem como um mecanismo para a transmissão não genômica de diferenças individuais na reatividade ao estresse entre gerações através de mecanismos epigenéticos. A conclusão do estudo é paradigmática: “Mais estudos são necessários para determinar como o comportamento materno altera o status epigenético do promotor do GR 17. Além disso, a relação causal exata entre a metilação do DNA e a acetilação da histona alterada e a ligação do NGFI-A ainda precisa ser definida. No entanto, nossos achados fornecem a primeira evidência de que o comportamento materno produz alterações estáveis na metilação do DNA e na estrutura da cromatina, fornecendo um mecanismo para os efeitos a longo prazo do cuidado materno sobre a expressão gênica na prole. Estes estudos oferecem uma oportunidade para definir claramente a natureza das interações gene-ambiente durante o desenvolvimento e como esses efeitos resultam na sustentada “programação ambiental” da expressão e função do gene ao longo da vida. [...] De fato, entre os mamíferos, a seleção natural pode ter moldado a prole para responder a variações sutis no comportamento dos pais como uma previsão das condições ambientais que acabarão por enfrentar quando se tornarem independentes da mãe [...] Propomos que os efeitos sobre a estrutura da cromatina, como os descritos aqui, sirvam como um processo intermediário que imprime experiências ambientais dinâmicas no genoma fixo, resultando em alterações estáveis no fenótipo”. (Weaver *et al.*, 2004, p. 852, tradução nossa). Outro estudo na mesma linha foi feito por Bedrosian *et al.* (2018) no qual se propôs estudar a variação estrutural dos genomas neurais em camundongos filhotes a partir dos cuidados maternos, cujos resultados seguem em sentido equivalente.

<sup>126</sup> Em um experimento com *Arabidopsis thaliana*, uma planta de referência, Johannes *et al.* (2009) montaram um painel de linhagens epigenéticas endogâmicas recombinantes (epigenetic Recombinant Inbred Lines - *epiRILs*) a partir de duas matrizes que apresentavam poucas diferenças na sequência de DNA, mas com perfis de metilação do DNA contrastantes e observaram a ocorrência de variações e alta herdabilidade no que se refere ao tempo de floração e altura das plantas (~30%). Além disso constataram que múltiplas variantes parentais apresentaram uma herança estável de pelo menos oito gerações no padrão de metilação do DNA (*epialleles*).

<sup>127</sup> Outro experimento que chama a atenção foi feito por Greer *et al.* (2011) com *Caenorhabditis elegans* (animal vermiforme, não segmentado e com simetria bilateral). Demonstraram eles que a manipulação de modificadores específicos da cromatina no complexo de metilação *H3K4me3* (associado a expressão gênica) apenas em pais pode induzir uma memória epigenética de longevidade em descendentes em até três gerações.

mecanismos moleculares subjacentes, processos bioquímicos, interações gene-organismo-ambiente envolvidas e impactos sobre a hereditariedade são ainda pouco compreendidos e não plenamente aceitos por pesquisadores de todas as áreas.

Feitas estas ressalvas iniciais ao tema, podemos avançar mais um pouco. O prefixo “epi” do termo “epigenética”, de origem grega, significa “acima, perto, a seguir” e foi cunhado por Conrad Waddington, em 1942, para descrever as expressões gênicas no nível do fenótipo que decorrem das interações do organismo com o meio - como resposta dos mecanismos de controle de expressão gênica - e que não implicam em modificações nos genes. (Youngson e Whitelaw, 2008). Segundo Bonduriansky e Day (2009, p. 106, tradução nossa):

numerous terms have been used to refer to non-DNA based inheritance, including soft inheritance, Lamarckian inheritance, epigenetic transgenerational inheritance, non-Mendelian inheritance, parental effects, fetal programming, effects of transference and cellular memory.

Dado que se trata de uma área de estudo muito recente, carece de uma precisão maior de conceitos que vão sendo definidos à medida que o conhecimento vai sendo consolidado no campo da pesquisa. Iniciativas no sentido de uma maior clareza do termo à luz dos conhecimentos acumulados, como de Bradbury (2003), Genetic Science Learning Center (2013), Bird (2007), Youngson e Whitelaw (2008), Jablonka (2017) e Bonduriansky e Day (2009), entre outros tantos, são esforços necessários e revelam duas qualidades interessantes em comum: ajudam-nos a refletir acerca do que estamos tratando e ao mesmo tempo, se estamos tratando da mesma coisa. Não nos aprofundaremos nas especificidades deste debate, contudo parece apropriado apontarmos algumas questões que tem sido tratadas por vários estudos.

Bird (2007, p. 398, tradução nossa) define epigenética como: “adaptação estrutural de regiões cromossômicas para registrar, sinalizar ou perpetuar estados alterados de atividade”. Youngson e Whitelaw (2008) fazem uma distinção entre “efeitos epigenéticos transgeracionais” e “herança epigenética transgeracional”. “Efeitos epigenéticos transgeracionais” seria um conceito mais amplo que se referiria a todos os processos que evoluíram para a determinação não genética do fenótipo, ao passo que “herança epigenética transgeracional” seria um conceito mais restrito associado àqueles efeitos epigenéticos incorporados no cromossomo e transferidos para as gerações subsequentes pelos gametas, daí a proposição de substituir a denominação “herança epigenética transgeracional” para “herança epigenética



gamética". Com efeito, notadamente parecem haver diferenças conceituais importantes no uso destes termos que certamente vão sendo superados à medida que o conhecimento nesta área se amplia e aprofunda. Visto não ser propósito desse nosso debate solucionar esta questão, deixá-la-emos em suspenso, ainda que reconheçamos a sua importância. Assumimos por ora que a epigenética é um conceito em formação, mesmo porque isto não inviabiliza que possamos tratar do tema, observando cautelosamente os vários sentidos que se atribui ao termo em cada caso.

Para fins de abordagem, poderíamos dizer que a epigenética, como campo de estudo, segue pelo menos duas perspectivas distintas, embora não dissociáveis: 1º epigenética como processo: centra-se na nos processos bioquímicos envolvidos na regulação da expressão gênica que atuam na maquinaria celular e tem despertado interesse de pesquisadores ligados a diversas áreas como a oncologia; 2º epigenética como herança transgeracional: centra-se na memória destes mecanismos de regulação da expressão gênica que podem ser herdado. Neste segundo grupo há uma tênue divisão entre os pesquisadores que vem focando a hereditariedade fundamentalmente no nível celular e os que vem trabalhando a hereditariedade no nível do organismo. Sobretudo este último subgrupo, mas não apenas, vem trazendo interessantes debates que desafiam princípios consagrados da biologia, em especial nos campos da biologia evolutiva e da genética clássica.

Dito de outra forma, o primeiro grupo (da epigenética como processo) centra-se na ideia do sistema de regulação da expressão gênica mediado também pelo ambiente e não exclusivamente pelos genes, em contraponto à tradição mendeliana. O segundo grupo (da epigenética como herança transgeracional) busca entender como essa fenomenologia se torna memória e herança entre gerações, vez que a Teoria da Evolução consagra à aleatoriedade das mutações a primazia da variabilidade e ao ambiente a exclusividade unidirecional da seleção, num binômio que nunca se cruza, senão para definir a sobrevivência. (Bonduriansky e Day, 2009; Jablonka, 2011).

Bonduriansky e Day apresenta uma estrutura geral para a conceituação de herança não genética e suas implicações evolutivas e faz as seguintes considerações:

A biologia evolutiva moderna foi fundada no modelo genético mendeliano de herança, mas agora está claro que esse modelo está incompleto. A evidência empírica desse ambiente (abrangendo todas as influências externas no genoma) pode impor efeitos transgeracionais e gerar uma variabilidade variável para uma ampla gama de características em animais, plantas e

outros organismos. Tais efeitos podem ser mediados pela transmissão de variações epigenéticas, citoplasmáticas, somáticas, nutricionais, ambientais e comportamentais. [...] ao desacoplar a mudança fenotípica do genótipo, a herança não genética pode contornar as limitações da herança genética e daí influenciar a dinâmica populacional e alterar a paisagem de aptidão. O peso da teoria e da evidência empírica indica que a herança não genética é um fator potente na evolução que pode gerar resultados imprevisíveis sob o modelo genético mendeliano. (Bonduriansky e Day, 2009, p. 1, tradução nossa).

Acrescenta ele que a epigenética, enquanto herança transgeracional, é um dos mecanismos que compõe um complexo maior de heranças não genéticas e poderia ser visto como uma extensão do modelo mendeliano de herança genética. Além de, evidentemente, influências de genes parentais, poderia ainda transmitir influências do fenótipo parental (incluindo efeitos do ambiente extra orgânico) o *imprinting genômico*, o transporte de substâncias através dos gametas, a transferência de soma parentais para embriões ou para a prole e a transmissão de comportamentos e cultura através da aprendizagem. (Bonduriansky e Day, 2009).

Segundo Cunha *et al.* (2016, p. 1):

a epigenética revela que os efeitos ambientais podem interferir no funcionamento dos genes, modificando os fenótipos, através do processo de metilação<sup>128</sup> [do DNA], em que se altere a expressividade do gene sem modificar a sequência dos nucleotídeos.

Essa alteração ocorreria porque “a ligação do grupo metil à base nitrogenada citocina pode silenciar o gene”. (Cunha *et al.*, 2016, p. 2). Ou seja, a metilação altera a estrutura da cromatina, fazendo com que a espiral do cromossoma fique mais densa, o que dificulta o processo de transcrição e ocasionando a redução da expressão gênica na região atingida. O processo inverso ampliaria a expressão correspondente. CRISPR-Cas9 tem sido utilizada em estudos iniciais de imagem da cromatina por fluorescência para monitorar regiões genômicas de interesse e a sua dinâmica em células vivas (Qin *et al.*, 2017), o que certamente contribuirá para uma maior compreensão destes fenômenos.

Segundo Fantappie (2013, p. 4), o mecanismo epigenético de silenciamento de genes, pela adição de um grupo metila à molécula de DNA, em determinado

---

<sup>128</sup> A metilação do DNA é um processo em que ocorre a “adição de um grupo metil (formado de partículas de hidrogênio e carbono) à base citosina do DNA – e a modificação de histonas – relacionadas à adição ou subtração de grupos acetil (carbono, oxigênio e hidrogênio) e metil (carbono e hidrogênio) aos aminoácidos que formam essas proteínas existentes no núcleo das células”. (Toledo, 2017b).

período do ciclo ou do desenvolvimento celular, ou ainda em tipos celulares específicos é parte da estratégia evolutiva do organismo e dele depende a homeostase. Esse mecanismo constrói padrões que serão transmitidos para as gerações futuras no que denomina “memória epigenética”.

Salvato e Labate (2010) e Reichmann Muller e Braun Prado (2008) citam três principais mecanismos epigenéticos: metilação do DNA, modificações pós-traducionais em histonas e ação de RNAs não codificadores (miRNAs, que já tratamos anteriormente). Molognoni (2012) acrescenta o posicionamento de nucleossomos aos mecanismos epigenéticos. Ricci (2007) associa a metilação do DNA, à forma conformacional da molécula na forma Z-DNA, uma forma transitória ainda pouco compreendida que ocorre em altas concentrações de íons e em sequências específicas que alternam purinas e pirimidinas – possivelmente resultantes de fatores ambientais, estruturais ou pela ligação de moléculas indutoras -, na qual a geometria da hélice da dupla fita assume sentido rotacional invertido e ao mesmo tempo um formato em zigue-e-zague, vide figura 25. Além da regulação da expressão gênica, esta forma conformacional estaria associada a outras atividades do DNA, como transcrição gênica, recombinação homóloga e mutagenese, incluindo ainda patologias como Lúpus eritematoso sistêmico, leucemias, linfomas e Doença de Alzheimer, vide Tabela 9.

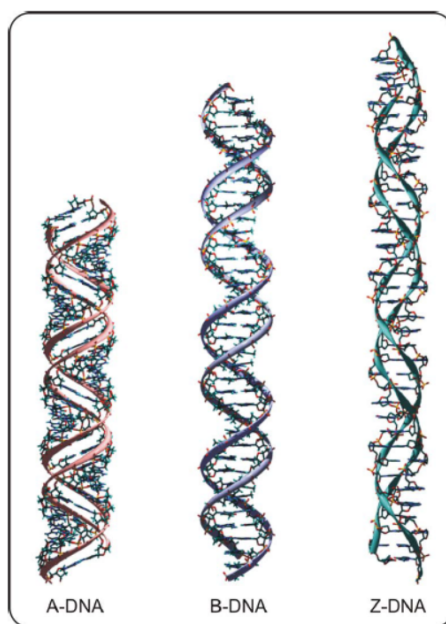


Figura 25 - Comparação entre diferentes formas da cromatina  
 Nota do autor: “A-DNA, B-DNA e Z- DNA. As estruturas foram geradas através do programa 3DNA, cada uma contendo 36 pares de bases. As formas A e Z possuem sequência poli (dC-dG) e a forma B possui sequência poli (dA-dT)”. (Ricci, 2007).  
 Fonte: Ricci (2007).

Tabela 9 - Atividades biológicas relacionadas a forma conformacional Z-DNA.

<b>Grupo de atividade evidenciado</b>	<b>Especificidade evidenciada na forma A-DNA</b>	<b>Especificidade evidenciada na forma Z-DNA</b>
Envolvimento em processos celulares	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Transcrição gênica (híbridos RNA-DNA)</li> <li>• Proteção contra radiação UV</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Transcrição gênica</li> <li>• Regulação da transcrição gênica</li> <li>• Recombinação genética</li> <li>• Mutagênese</li> </ul>
Moléculas capazes de reconhecer especificamente e/ou induzir as conformações	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Poliaminas</li> <li>• SASP (Small Soluble-Acid Protein)</li> <li>• TBP (TATA-box Binding Protein)</li> <li>• CRP (Cyclic AMP Receptor Protein)</li> <li>• Neomicina</li> <li>• Sac7d</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Poliaminas</li> <li>• Anticorpos</li> <li>• RecA</li> <li>• Rec1</li> <li>• ADAR1 (double-stranded RNA adenosine deaminase)</li> <li>• DML1</li> <li>• E3L</li> </ul>
Participação em estados patológicos		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lúpus eritematoso sistêmico</li> <li>• Doenças associadas a instabilidades cromossomais (leucemias e linfomas)</li> <li>• Doença de Alzheimer</li> </ul>

Fonte: adaptado de Ricci (2007).

Fantappie (2013, p. 1) chama a atenção que: “as modificações epigenéticas podem ser herdadas no momento da divisão celular (mitose) e irão ter um profundo efeito na biologia do organismo, definindo diferentes fenótipos (i.e. morfologia, desenvolvimento, comportamento, etc.)”. Em pesquisa para entender as diferenças entre gêmeos monozigotos, cujas características fenotípicas em regra não são idênticas entre si – há várias diferenças antropomórficas, de suscetibilidades a doenças, entre outras –, Fraga e colaboradores, a partir do estudo de diferenças nos padrões epigenéticos relacionados à metilação global e locus-específico do DNA e acetilação de histona H3 e H4, em uma série de 40 gêmeos monozigóticos (80 indivíduos, de ambos os sexos, com idades variando entre 3 a 74 anos) relataram que embora os gêmeos:

sejam epigeneticamente indistinguíveis durante os primeiros anos de vida, os gêmeos monozigotos mais velhos exibiram diferenças notáveis em seu conteúdo geral e distribuição genômica do DNA de 5-metilcitosina e

acetilação de histonas, afetando o retrato de expressão gênica. Estes resultados indicam como falta uma apreciação da epigenética em nossa compreensão de como diferentes fenótipos podem ser originados a partir do mesmo genótipo. (Fraga *et al.*, 2005, p. 1, tradução nossa).

Diversos estudos, notadamente em oncogênese (Ferrarelli, 2018; Gigek, 2011; Mari-Alexandre *et al.*, 2017); neurogênese (Bedrosian *et al.*, 2018; Liston, 2018; Szulwach *et al.*, 2010); células-tronco neurais (Szulwach *et al.*, 2010), e embrionárias (Szulwach *et al.*, 2011), entre outros, vem pesquisando a epigenética tanto como fator de ativação ou silenciamento da expressão de genes que se traduzem em variações ou patologias no fenótipo, como também a influência deste mecanismo na regulação da expressão dos mesmos e na formação fenotípica em descendentes.

Com efeito, este é um debate muitíssimo interessante e que infelizmente necessitamos encerrar para prosseguirmos em nosso propósito, mas não sem antes trazer as palavras de Bonduriansky e Day; (2009b, p. 119, tradução nossa):

Como Jablonka & Lamb (1995, 2005) argumentam há mais de uma década, uma compreensão das implicações da herança não genética levará a um modelo mais poderoso de evolução. Nós vemos o desenvolvimento de tal modelo como um desafio chave para a biologia.

De fato, a epigenética vem desafiando alguns dogmas fundamentais da teoria da evolução amplamente aceita, o que não é pouco e nem simples, mas que pode mudar de maneira substantiva a compreensão que temos do fenômeno da vida e de como ela evoluiu até aqui. Como isso muda a reflexão sobre a edição de genes sob a perspectiva dos riscos e benefícios, é uma etapa posterior da qual, ao que parece, estamos muito distantes de alcançarmos.

## 7.7 MUTAÇÕES

Tabela 10 - Tipos de mutações gênicas

<b>Mutações Gênicas</b>		
<b>Substituição</b> (de uma só base do DNA)	Silenciosa	Substituição de uma base do DNA por outra (no 3º nucleotídeo de cada códon), resulta num códon que codifica o mesmo aminoácido, devido à redundância do código genético. São muito comuns e responsáveis pela diversidade genética que não é expressa fenotipicamente.
	Com perda de sentido	Substituição de uma base do DNA por outra, tem como consequência a troca de um aminoácido por outro na proteína codificada. A conformação da proteína pode ser alterada.
	Sem sentido ( <i>nonsense</i> )	Substituição de uma base do DNA de tal modo que, no RNAm, um códon que especifica um aminoácido é alterado para um códon de STOP, ou o contrário. Origina uma proteína mais curta ou mais longa do que a proteína normal
<b>Deleção</b> (de uma ou mais bases do DNA)	Pode ser removida uma única base do DNA ou milhares delas. A remoção de um número de bases que não seja múltiplo de três altera completamente a mensagem do gene.	
<b>Inserção</b> (de uma ou mais bases ao DNA)	O número de bases adicionadas ao DNA pode variar. A adição de um número que não seja múltiplo de três altera completamente a mensagem do gene. Quando é inserida uma sequência igual a outra ocorre uma duplicação.	

Fonte: adaptado de Martins (2016).

Tabela 11 - Tipos de mutações numéricas ou estruturais

<b>Mutações Numéricas ou Estruturais</b>				
<b>Numéricas</b>	Euploidia <sup>(a)</sup>	Ocorrência de alteração completa do genoma	Haploidia	Perda de metade do material genético.
			Poliploidia <sup>(b)</sup>	Ganho de material genético (x.2n).
	Aneuploidia <sup>(c)</sup>	Ocorrência de cromossomas a mais ou a menos em relação ao número normal	Nulissomia	Faltam os dois cromossomas de um par de homólogos (2n-2).
			Monossomia	Ausência de um dos homólogos num dado par (2n-1).
			Polissomia	Ocorrência de um ou mais cromossomas extra.
	<b>Estruturais</b>	Deleção <sup>(d)</sup>		Falta uma porção de um cromossoma.
Duplicação <sup>(e)</sup>		Existência de duas cópias de uma dada região cromossômica, frequentemente associada à deleção no correspondente cromossomo homólogo.		
Translocação		Transferência de segmentos entre cromossomas não homólogos	Simples <sup>(f)</sup>	Transferência de um segmento de um cromossomo para outro não homólogo
			Recíproca <sup>(f)</sup>	Troca de partes entre dois cromossomos.
			Robertsoniana <sup>(g)</sup>	Os braços longos de dois cromossomos acrocêntricos ligam-se formando um único cromossomo e os braços curtos são perdidos. Causada pelo cruzamento e quebra de cromossomos não homólogos ou pela perda dos telômeros.
Inversão <sup>(h)</sup>		Remoção de um segmento de DNA e inserção numa posição invertida num outro local do cromossoma	Paracêntrica	Remoção de um segmento de DNA e inserção numa posição invertida num outro local do cromossomo, sem incluir o centrômero.
			Pericêntrica	Remoção de um segmento de DNA e inserção numa posição invertida num outro local do cromossomo, com inclusão do centrômero.

Fonte: adaptado de Martins (2016).

(a) As euploidias geralmente envolvem apenas um único par de cromossomas e podem ser autossômicas ou heterossômicas.

(b) Embriões humanos poliploides não se desenvolvem e são abortados espontaneamente. Algumas células somáticas humanas podem ser poliploides, gerando mosaicismo (associado a síndrome de Down, síndrome de Klinefelter e síndrome de Turner), que é um dos efeitos inesperados possíveis no uso da técnica CRISPR-Cas9.

(c) Geralmente envolve apenas um único par de cromossomas e pode ser autossômica ou heterossômica. As aneuploidias mais comuns em seres humanos são as trissomias 21, 13 e 18, a

monossomia do X e outras alterações numérica dos heterossomas. Ocorrências em outros cromossomos não permitem o desenvolvimento do embrião até o nascimento, resultando em abortos espontâneos. As aneuploidias dos cromossomas sexuais são melhor toleradas do que as dos autossomas.

(d) As deleções variam muito em tamanho, mas as maiores têm efeitos mais nefastos pois removem mais genes.

(e) Os efeitos da duplicação variam em função da extensão e do tipo de informação repetida.

(f) Na translocação simples e na translocação recíproca, se não houver quebra de genes, o fenótipo não é afetado.

(g) Cerca de 4% das síndromes de Down estão associados a uma translocação robertsoniana entre o cromossoma 14 e o 21.

(h) As consequências de uma inversão dependem dos genes envolvidos. No caso de a inversão incluir parte de um segmento de DNA que codifica para uma proteína, esta será muito diferente e não funcional, na maioria das situações. Certas inversões não têm efeitos sobre o fenótipo, mas causam problemas reprodutivos. O emparelhamento, na meiose, de um cromossoma com uma inversão com um cromossoma normal implica que um dos cromossomos tenha de se dobrar. O *crossing-over* nessa região pode originar duplicações ou deleções nos cromossomos recombinantes.



## APÊNDICE C – OUTRAS TÉCNICAS DE MANUPILAÇÃO DE NUCLEOTÍDEOS

### 8 OUTRAS TÉCNICAS DE EDIÇÃO

#### 8.1 ZINC-FINGER NUCLEASES

Primeira técnica de edição de genes desenvolvida, Zinc-Finger Nucleases é baseada em fusões de proteínas ZFP com endonucleases capazes de clivar o DNA, geralmente no domínio de enzimas de restrição FokI (proveniente da bactéria *Flavobacterium okeanokoites*). É capaz de reconhecer uma sequência de apenas 3pb. Eventualmente podem ocorrer erros de reparação, incluindo-se ao utilizar mecanismo de reparo por HDR de uma cromátide-irmã disponível. Curiosamente, a tendência a erros da técnica pode ser utilizada para produzir *frameshifts* (erros na grelha de leitura) em uma sequência de nucleotídeos para induzir perda de função na transcrição de proteína específica, como decorrência de proteína truncada, não-funcional, ou por degradação do mRNA. (Nabais, 2015; Vasconcelos e Figueiredo, 2016).

ZFN são as proteínas mais comuns de união do DNA. Cada domínio ZFN contém em torno de 30 aminoácidos em uma configuração  $\beta\beta\alpha$ . Acredita-se que seria possível organizar vários ZFN em cadeia, em uma única nucleasse, de modo a direcionar a clivagem para uma sequência única. Tal hipótese se baseia na ideia de que os domínios individuais de ZFN podem ser modificados, criando novas especificidades para o conjunto da proteína. (Guerrero, 2018).

#### 8.2 TALENS

Utilizada muitas vezes em substituição à técnica ZFN, TALENs - TAL effector nucleases, utiliza fusão do domínio de repetições TALE e domínio de endonucleases de FokI, mas com e domínios de ligação ao DNA derivados de proteínas TALE, obtidas de bactérias de plantas (*Xanthomonas* ou *Ralstonia*). A técnica consiste basicamente no uso de um conjunto de repetições similares a de sequências de aminoácidos, com duas pequenas diferenças nas posições 12 e 13 altamente variáveis para o reconhecimento de nucleotídeos específicos. Pode ser utilizada para *knockout* gênico ou para induzir mutações. Uma variante do sistema TALE, sistema optogênico LITE – *light-inducible transcriptional effectors*, possibilita regular a atividade de transcrição e

direcionar modificações epigenéticas específicas da cromatina para o locus desejado. (Nabais, 2015).

### 8.3 MEGANUCLEASE

Meganucleases são endonucleases, geralmente encontradas em fagos, bactérias, arqueobactérias e vários eucariontes, capazes de reconhecer locais-alvo de DNA grandes, de 12-45 pares de base. Trata-se de uma técnica de reengenharia da forma natural como ocorrem as ligações das endonucleases no DNA. Segundo Maeder e Gersbach (2016, p. 433): “os domínios das endonucleases de destino são difíceis de separar, e a dificuldade relativa de se projetar proteínas com novas especificidades limitou tradicionalmente o uso dessa plataforma”. A construção de proteínas quiméricas aproveitando a afinidade de ZFs e TALEs e a especificidade de clivagem das meganucleases tem se mostrado uma solução promissora. Uma qualidade potencial desta técnica está relacionada ao fato de que a DSB resultante produz uma saliência 3', que pode ser mais acessível para HDR do que a 5' gerada por FokI. Além disso, o tamanho reduzido das nucleases editadas tornam as meganucleases potencialmente aptas para serem empacotadas em múltiplos monômeros, em um único vetor viral, inclusive para múltiplas DSBs. (Epinat, 2003; Maeder e Gersbach, 2016; Silva *et al.*, 2011).

## APÊNDICE D – PRINCIPAIS PARAMETROS NORTEADORES, CRITÉRIOS E ESPECIFICIDADES PARA AVALIAÇÃO DE RISCOS POR CLASSES DE RISCO

Tabela 12 - Parâmetros norteadores dos critérios de classificação de risco para OGMs.

Especificidade	Condicionante a ser considerada
Sequência(s) nucleotídea(s) transferida(s) e a expressão das mesmas no organismo receptor	O OGM que contenha sequências de DNA/RNA derivadas de organismos de Classe de Risco superior e com potencial de expressão poderá, a critério da CTNBio, ser classificado na Classe de Risco do organismo receptor, desde que reconhecidamente não associadas à toxicidade ou patogenicidade nas atividades e projetos propostos.
	A possibilidade de recombinação de sequências inseridas no OGM, levando à reconstituição completa e funcional de genomas de agentes infecciosos.
	Outros processos que gerem um genoma infeccioso.
	Genes que codifiquem substâncias tóxicas ao ser humano, aos animais, aos vegetais ou que causem efeitos adversos ao meio ambiente.
	Genes de resistência a antibióticos de amplo uso clínico.
OGM resultante e seus efeitos adversos à saúde humana e animal, aos vegetais e ao meio ambiente	Para genes que codificam produtos nocivos para a saúde humana e animal, aos vegetais e ao meio ambiente, o vetor utilizado deverá ter capacidade limitada para sobreviver fora do ambiente de contenção.
	O OGM que se torne mais apto à sobrevivência no meio ambiente que os organismos nativos e que, a critério da CTNBio, represente uma ameaça potencial à biodiversidade, pode ter sua Classe de Risco aumentada.
Enquadram-se na Classe de Risco 2 ou superior	Vegetais geneticamente modificados que são plantas daninhas ou espontâneas, que possam cruzar com estas em área que torne este cruzamento possível, gerando descendentes férteis com maior capacidade de invasão e dano ao meio ambiente do que os parentais.
	Organismos geneticamente modificados que sejam vetores biológicos de agentes causadores de agravos à saúde do homem, dos animais, dos vegetais ou ao meio ambiente

Fonte: adaptado do art. 7º, parágrafos 1, 3, 4, 5 e 6, da Resolução Normativa nº 02, de 27/11/2006 da CTNBio. (CTNBio - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança, 2006).

Tabela 13 - Principais critérios para avaliação de risco

<b>Fator</b>	<b>Critério</b>	<b>Especificidade</b>	
<b>Agente biológico</b>	1	Virulência	Grau de patogenicidade, medida pela capacidade de invadir tecidos do hospedeiro e coeficiente de letalidade
	2	Modo de transmissão	Percurso feito pelo agente biológico desde a fonte de exposição até o hospedeiro. Inclui as vias de transmissão: aérea, epidérmica ou ingestão
	3	Estabilidade do agente biológico	Capacidade de manter o potencial infeccioso no meio ambiente e em condições adversas como a exposição a luz, radiação ultravioleta, temperatura, umidade relativa e a agentes químicos
	4	Concentração e volume	Relação entre a concentração de agentes patogênicos por unidade de volume x potencial infectante
	5	Origem do agente biológico	Considera a origem e localização geográfica do hospedeiro e a natureza do vetor de transmissão
	6	Dose infectante	Concentração necessária para causar doença em razão da virulência do patógeno, via de transmissão e susceptibilidade do hospedeiro
<b>Hospedeiro</b>	7	Medidas profiláticas	Disponibilidade de mecanismos de proteção preventiva, incluindo imunização por vacina e antimicrobianos, medidas sanitárias, controle de vetores e quarentenas para movimentos fronteiriços
	8	Medidas terapêuticas	Disponibilidade de tratamento eficaz para o hospedeiro em caso de contaminação. Leva em conta o risco de indução de resistência do patógeno envolvido.
<b>Estabelecimentos de saúde e laboratório</b>	9	Manuseio do agente patogênico	Riscos de contaminação por manipulação do agente patogênico e protocolos de segurança
	10	Eliminação do agente patogênico	Vias de eliminação do agente patogênico por parte do hospedeiro que possam servir de meios de transmissão. Eliminação por vias aéreas e manuseio de cobaias infectadas representam riscos adicionais.
	11	Condicionantes relativas ao trabalhador	Grau de susceptibilidade do profissional de saúde ou pesquisador ao manipular agentes patogênicos em razão de: condições físicas, clínicas e psicológicas, estado imunológico, exposição prévia, gravidez, lactação, consumo de álcool, consumo de medicamentos, hábitos de higiene pessoal e uso de EPI, entre outros. Treinamento e experiência são requisitos primários.

Fonte: adaptado de Brasil - Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência (2010), Ministério da Saúde (2010).

Tabela 14 - Classes de Riscos dos agentes biológicos

<b>Classe de Risco</b>	<b>Nível de risco</b>	<b>Especificidades do agente biológico segundo as normas da CBS</b>	<b>Especificidades do OGM segundo as normas da CTNBio</b>
<b>Classe de Risco 1</b>	Baixo risco individual e para a comunidade	Como regra, não tem capacidade de provocar doenças em humanos ou outros animais adultos saudáveis e caso ocorram existem medidas terapêuticas e profiláticas eficazes.	Contém sequências de DNA/RNA de organismo doador e receptor que não causam agravos à saúde humana e animal ou efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente
<b>Classe de Risco 2</b>	Moderado risco individual e baixo risco para a comunidade	Provocam infecções em humanos ou outros animais, mas existem medidas terapêuticas e profiláticas eficazes. Tem potencial limitado de propagação na comunidade e no meio ambiente.	Contém sequências de DNA/RNA de organismo doador ou receptor com moderado risco de agravo à saúde humana e animal, com baixo risco de disseminação e de causar efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente
<b>Classe de Risco 3</b>	Alto risco individual e moderado risco para a comunidade	Causam patologias graves e potencialmente letais em humanos e outros animais, mas existem medidas preventivas e tratamento disponíveis. Tem capacidade de transmissão por vias aéreas, inclui a possibilidade de se propagar no meio ambiente e por contato pessoa a pessoa.	Contém sequências de DNA/RNA de organismo doador ou receptor, com alto risco de agravo à saúde humana e animal. Tem baixo ou moderado risco de disseminação e de causar efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente
<b>Classe de Risco 4</b>	Alto risco individual e para a comunidade	Causa doenças de alta gravidade e letais em humanos e outros animais, com alta capacidade de disseminação na comunidade e no meio ambiente para as quais não existe medida profilática ou terapêutica eficaz. Tem grande poder de transmissibilidade, inclusive por via aérea ou de transmissão desconhecida.	Contém sequências de DNA/RNA de organismo doador ou receptor com alto risco de agravo à saúde humana e animal. Tem elevado risco de disseminação e de causar efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente

Fonte: baseado em Brasil - Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência (2010), FIOCRUZ (2017), CTNBio - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (2006).

## APÊNDICE E – REQUISITOS E ESPECIFICIDADES POR NÍVEL DE BIOSSEGURANÇA

Tabela 15 - Nível de Biossegurança 1 para OGMs, Classe de Risco 1 e especificidades

<b>Principais requisitos</b>
Não exige instalação isolada.
Todo resíduo líquido ou sólido contaminado, material ou equipamento deve ser descontaminado antes de ser descartado.
Materiais contaminados só podem ser retirados das instalações em recipientes rígidos e à prova de vazamentos.
Obrigatoriedade de controle de insetos e roedores.
Obrigatoriedade de registros de cada atividade ou projeto desenvolvido.
Impossibilitar o uso do material contaminado como alimento por animais ou pelo homem.

Fonte: CTNBio - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (2006).

Tabela 16 - Nível de Biossegurança 2 para OGMs, Classe de Risco 2 e especificidades

<b>Principais requisitos</b>
Todos dos requisitos do NB-1.
Autoclave disponível em seu interior.
Cabines de segurança biológica (Classe I ou II).
Controle de acesso e de pessoal autorizado a trabalhar nas instalações.
Vacinação de toda a equipe técnica e de apoio.
Exames médicos e laboratoriais periódicos, a critério da CTNBio.

Fonte: CTNBio - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (2006).

Tabela 17 - Nível de Biossegurança 3 para OGMs, Classe de Risco 3 e especificidades

<b>Principais requisitos</b>
Todos dos requisitos do NB-1 e NB-2.
Requer instalações separadas.
Sistema de dupla porta, com fechamento automático por intertravamento para separação física entre instalações NB-3 das demais instalações, laboratórios ou corredores de acesso, incluindo sala para troca de roupas, chuveiros, bloqueio de ar e outros dispositivos, para acesso em duas etapas.
Fonte de energia de emergência com acionamento automático.
Sistema de ar independente com filtro HEPA, com pressão diferencial e fluxo unidirecional que não permita a saída do agente de risco, com sistema de alarme contra falhas, sem exaustão do ar para outras áreas do prédio.
Cabines de segurança biológica Classe II ou III.
Janelas devem ser lacradas, com vidros duplos de segurança.
Autoclave com sistema de dupla porta.
Todo o líquido efluente das instalações deve ser descontaminado antes de liberado.

Linhas de vácuo devem estar protegidas com filtro de ar com elevada eficiência e coletores com líquido desinfetante.
Toda equipe técnica deve tomar banho ao entrar e sair das instalações.
Proibido o uso das roupas do NB-3 fora das instalações, sendo obrigatório descontaminá-las antes de serem encaminhadas à lavanderia ou ao descarte.
Obrigatório uso de máscaras faciais ou respiradores apropriados nas instalações.
Nenhum material biológico com capacidade de propagação pode deixar as instalações
Obrigatório sistema de comunicação apropriado com o exterior e câmeras de vídeo na entrada e na saída das instalações.
Devem ser mantidas amostras-referência de soro da equipe técnica.
Animais de laboratório em NB-3 devem ser mantidos em sistemas de confinamento (sistemas de caixas com filtro HEPA e paredes rígidas). A manipulação desses animais deve ser feita em cabine de segurança biológica classe II ou III.

Fonte: CTNBio - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (2006).

Tabela 18 - Nível de Biossegurança 4 para OGMs, Classe de Risco 4 e especificidades

<b>Principais requisitos</b>
Todos dos requisitos do NB-1, NB-2 e NB-3.
A instalação NB-4 deve estar localizada em prédio separado ou em área claramente demarcada e isolada das demais instalações da instituição e dispor de vigilância 24 horas por dia.
Câmaras de entrada e saída de pessoal, separadas por chuveiro.
Cabine de segurança biológica Classe II ou III, em associação com roupas de proteção pessoal com pressão positiva, ventiladas por sistema de suporte de vida.
Sistema de autoclave de dupla porta, câmara de fumigação, ou sistema de ventilação com antecâmara pressurizada.
Sistema de drenagem do solo deve conter depósito com desinfetante químico eficaz para o agente em questão, conectado diretamente a um sistema coletor de descontaminação de líquidos.
Sistema de esgoto e ventilação deve estar acoplado a filtros HEPA de elevada eficiência. As instalações de filtros e esgotos devem estar confinadas à área de contenção.
Os efluentes e líquidos liberados de chuveiros ou de sanitários devem ser descontaminados.
Deve ter antessala para a equipe vestir roupas específicas (escafandro) com pressão positiva e sistema de suporte de vida. O sistema deve prever alarmes e tanques de respiração de emergência
Deve ter chuveiro para a descontaminação química.
O material biológico viável, ao ser removido deve ser acondicionado em recipiente de contenção inquebrável e selado, acondicionado dentro de um segundo recipiente também inquebrável e selado e passar por tanque de imersão contendo desinfetante ou por uma câmara de fumigação ou ainda, por um sistema de barreira de ar.
Portas de acesso devem ser hermeticamente fechadas, com sistema de monitoramento visual, sistema de acesso por cartão magnético ou códigos digitais, registro de entrada e saída de pessoal, com data, horário e assinaturas.

Deve ter protocolos para situações de emergência, sistema de notificação de acidentes, exposição e absenteísmo da equipe e sistema de vigilância médica.

Deve ter unidade de quarentena, isolamento e cuidados médicos para os suspeitos de contaminação.

Fonte: CTNBio - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (2006).